



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA
UFPB – UFC**

THAMIRES DA SILVA FERREIRA

**BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE
DE PRODUÇÃO**

AREIA

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383b Ferreira, Thamires da Silva.

Bioeficácia de fontes de metionina para poedeiras leves na fase de produção / Thamires da Silva Ferreira. - Areia:UFPB/CCA, 2021.

96 f. : il.

Orientação: Fernando Guilherme Perazzo Costa.

Coorientação: José Humberto Vilar da Silva, Geraldo Roberto Quintão Lana.

Tese (Doutorado) - UFPB/CENTRO.

1. Zootecnia. 2. Metionina. 3. Morfometria intestinal. 4. Desempenho produtivo. I. Costa, Fernando Guilherme Perazzo. II. Silva, José Humberto Vilar da. III. Lana, Geraldo Roberto Quintão. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.2)

THAMIRES DA SILVA FERREIRA

**BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE
DE PRODUÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Zootecnia

Área de Concentração: Nutrição Animal

Comitê de orientação:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa – Orientador Principal

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

Prof. Dr. Geraldo Roberto Quintão Lana

AREIA

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA
UFPB – UFC**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

**TÍTULO: “BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA PARA POEDEIRAS LEVES
NA FASE DE PRODUÇÃO”**

AUTORA: THAMIRES DA SILVA FERREIRA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo Costa

Presidente

Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Prof. Dr. Marcelo Helder Medeiros Santana

Examinador

Instituto Federal da Paraíba - IFPB

MNT. 206.688-6

Prof. Dr. Danilo Vargas Gonçalves Vieira

Examinador

Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Prof. Dr. Isabelle Naemi Kaneko

Examinadora

Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Prof. Dr. Alexandre Lemos de Barros Filho

Examinador

Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Areia, 26 de fevereiro de 2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais pelo apoio em todos esses anos.

Agradeço a Universidade Federal da Paraíba pelo conhecimento necessário para minha formação.

Ao professor Fernando Perazzo e ao grupo de estudos em Tecnologia Avícolas onde conheci excelentes profissionais colegas de profissão. Agradeço aos funcionários da Avicultura, e a todos que participaram direta e indiretamente deste trabalho.

Agradeço ao professor Walter Pereira, por toda ajuda com a estatística e toda a paciência e disponibilidade em ajudar.

As agências de fomento CAPES e CNPq pela concessão de bolsa.

RESUMO GERAL

BIOEFICÁCIA DE FONTES DE METIONINA PARA POEDEIRAS LEVES NA FASE DE PRODUÇÃO

RESUMO - A metionina (Met) em dietas de poderias é essencial para inúmeras funções biológicas, como a metilação de proteínas e lipídios, o que torna a sua suplementação fundamental para a manutenção, crescimento, desempenho produtivo, para o bom desenvolvimento das penas. e leva a mudanças na morfologia intestinal através do estímulo da proliferação celular no epitélio intestinal e por melhorar a integridade. A indústria disponibiliza a DL-metionina (DLM) como fonte padrão por ter 99% de Met. O surgimento dos análogos de metionina (MHA) por representar 20% a menos dos custos em relação a DLM, torna o uso de interesse comercial. Todavia, na literatura ainda há muitas controvérsias quanto a bioeficácia desses. O objetivo deste estudo foi determinar a bioeficácia relativa das fontes de MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de Met + Cys digestíveis em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade por meio do desempenho produtivo e a histomorfometria intestinal e do aparelho reprodutivo das aves. Um total de 1080 poedeiras Hy-line W80 foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, 2 x 4 + 1 (2 fontes de metionina, MHA-Ca e DLM; 4 níveis de suplementação de Met+Cys para cada fonte: 0,46, 0,54, 0,56 e 0,58% e 1 tratamento isento de suplementação de metionina) com 12 repetições e 10 aves por repetição. Houve interação entre as fontes e os níveis no CR (consumo de ração) e PO (peso do ovo). No nível de 0,58% aves que receberam MHA-Ca tiveram o menor CR. e No nível de 0,46% o maior PO foi para DLM. A MO (massa de ovos) e CMO (conversão por massa de ovos) apresentaram respostas quadráticas, 0,59 e 0,62% estimados. A interação entre as fontes para PEG (peso de gema) e POG (porcentagem de gema) 0,58% a MHA-Ca foi superior a DLM. O PEG (peso de gema). A MHA-Ca para o IG (índice de gema) e POA (peso do albúmen) apresentou efeito isolado. Também houve interação para PEC (peso de casca) e GE (gravidade específica), onde no nível de 0,46% a DLM teve o maior PEC. A MHA-Ca apresentou a maior PEC e GE nos níveis de 0,50 e 0,54%. Houve efeito linear descendente para EC (espessura de casca) e POC (peso de casca). A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM para PO, PRO POG, PEA, PEG, PEC e GE foi de 99 e 97, 87 e 97 e 95, 95 e 91%, respectivamente. Houve maior probabilidade de escores 3 e 4 para pescoço, peito, dorso, asa, cloaca e cauda. Para a análise economia, houve efeito entre os níveis para DZO (dúzias de ovos), no nível de 0,58% as aves alimentadas com MHA-Ca tiveram menor CKg (custo por kg de ração) e CC (custo por caixa de ração) e a melhor MB (margem bruta) RM (rentabilidade média) e IRM (índice de rentabilidade média) em relação a DLM. Houve efeito na interação entre as para o duodeno e No nível de 0,46% a DLM apresentou maior LV (largura de vilo), ASV (área de superfície de vilo) e V:C (relação vilo:cripta), como maior ALV (altura de vilo) e maior CC (número de células caliciformes) nos efeitos isolados. No jejuno a fonte de DLM também apresentou maior ALV, ASV e V:C. Aos níveis de suplementação houve efeito linear sobre as variáveis de ALV, ASV e PC (profundidade de cripta). No íleo somente a DLM também apresentou a maior LV, os níveis também apresentaram comportamento linear para LV e ASV. A bioeficácia relativa da MHA-Ca em comparação a DLM foi de 99, 78% na LV e ASV para o duodeno, 83 e 79% na ASV e V:C do jejuno, 79% na ALV para o íleo. Somente em aves alimentadas com DLM houve maior probabilidade no acúmulo de GE (glicogênio hepático) pouca positividade. As fontes tiveram maior probabilidade positividade intensa. Na esteatose houve a redução da probabilidade dos esteatose moderada e baixa probabilidade de esteatose avançada. No magno a DLM apresentou maior EPM (espessura do epitélio do magno) No nível de 0,58%. Houve efeito isolado entre as fontes para variáveis ADU (altura de dobra

uterínica), LDU (largura de dobra uterínica) e LPM (altura de perímetro de magno). Os níveis tiveram influência sobre ADU, LDU, LPM com efeito linear. A bioeficácia foi de 70, 131 e 76% na ADU, APM e EPM. Independente da fonte de metionina utilizada o nível de suplementação de 0,58% de Met+Cys digestíveis promoveu melhorias nos índices produtivos, na qualidade interna e externa do ovo, como também, melhorou o índice de cobertura de penas em poedeiras na fase de produção. Também foi benéfico ao desenvolvimento da mucosa intestinal, parâmetros do útero e magno, maior estocagem de glicogênio hepático e menor incidência de esteatose hepática. Diante da bioeficácia relativa pode-se concluir que as aves alimentadas com DLM apresentam maior biodisponibilidade em níveis menores de Met+Cys em relação a MHA-Ca. Contudo, foi No nível de 0,58% com a DLM que houve os melhores resultados avaliados. Todavia a fonte MHA-Ca mostrou-se mais economicamente viável em relação a fonte DLM com base nos parâmetros econômicos avaliados. Portanto, recomendamos a utilização da fonte MHA-Ca com nível de suplementação de 0,58%.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurosos; monocarboxilato; biodisponibilidade; MHA-Ca, DL-metionina.

BIOEFFECTIVENESS OF METHIONINE SOURCES FOR LIGHT LAYERS IN THE PRODUCTION PHASE

ABSTRACT – Methionine (Met) in power diets is essential for numerous biological functions, such as the methylation of proteins and lipids, which makes its supplementation essential for the maintenance, growth, productive performance, for the good development of the feathers. and leads to changes in intestinal morphology by stimulating cell proliferation in the intestinal epithelium and by improving integrity. The industry provides DL-methionine (DLM) as a standard source for having 99% Met. The emergence of methionine analogs (MHA) for representing 20% less of the costs in relation to DLM, makes the use of commercial interest. However, there are still many controversies in the literature regarding their bioeffectiveness. The aim of this study was to determine the relative bioeffectiveness of MHA-Ca sources compared to DLM at Met + Cys SID levels in light-laying diets from 42 to 62 weeks of age through productive performance and intestinal and appliance histomorphometry. reproductive health of birds. A total of 1080 Hy-line W80 layers were distributed in a completely randomized design in a factorial scheme, 2 x 4 + 1 (2 sources of methionine, MHA-Ca and DLM; 4 levels of Met + Cys supplementation for each source: 0.46, 0.54, 0.56 and 0.58% and 1 treatment without methionine supplementation) with 12 repetitions and 10 birds per repetition. There was an interaction between sources and levels in CR (feed intake) and PO (egg weight). At the level of 0.58% birds that received MHA-Ca had the lowest CR. and at the 0.46% level, the highest PO was for DLM. OM (egg mass) and CMO (egg mass conversion) showed quadratic responses, 0.59 and 0.62% estimated. The interaction between the sources for PEG (yolk weight) and POG (yolk percentage) 0.58% at MHA-Ca was superior to DLM. PEG (yolk weight). MHA-Ca for IG (yolk index) and POA (albumen weight) had an isolated effect. There was also interaction for PEC (peel weight) and GE (specific gravity), where at the level of 0.46% DLM had the highest PEC. MHA-Ca presented the highest PEC and GE at the levels of 0.50 and 0.54%. There was a linear downward effect for EC (shell thickness) and POC (shell weight). The bioeffectiveness of MHA-Ca compared to DLM for PO, PRO, POG, PEA, PEG, PEC and GE was 99 and 97, 87 and 97 and 95, 95 and 91%, respectively. There was a higher probability of scores 3 and 4 for neck, chest, back, wing, cloaca and tail. For the economic analysis, there was an effect between the levels for DZO (dozens of eggs), at the level of 0.58% the birds fed with MHA-Ca had lower CKg (cost per kg of feed) and CC (cost per feed box) and the best MB (gross margin) RM (average profitability) and IRM (average profitability index) in relation to DLM. There was an effect on the interaction between the duodenum and at the level of 0.46%, the DLM presented a higher LV (villus width), ASV (villus surface area) and V: C (villus: crypt ratio), as the highest ALV (villus height) and higher CC (number of goblet cells) in the isolated effects. In the jejunum, the DLM source also showed higher ALV, ASV and V: C. At supplementation levels, there was a linear effect on the variables of ALV, ASV and CP (crypt depth). In the ileum, only the DLM also had the highest LV, the levels also showed a linear behavior for LV and ASV. The relative bioeffectiveness of MHA-Ca compared to DLM was 99, 78% in LV and ASV for the duodenum, 83 and 79% in ASV and V: C of the jejunum, 79% in ALV for the ileum. Only in birds fed with DLM there was a greater probability of accumulation of GE (hepatic glycogen) with little positivity. The sources were more likely to have intense positivity. In steatosis there was a reduction in the likelihood of moderate steatosis and a low probability of advanced steatosis. On magnesium, DLM presented a greater EPM (magnum epithelium thickness) at the level of 0.58%. There was an isolated effect between the sources for variables ADU (uterine fold height), LDU (uterine fold width) and LPM (magnitude perimeter height). The levels had an influence on ADU, LDU, LPM with linear effect. Bioeffectiveness was 70, 131 and 76% in ADU, APM and EPM. Regardless of

the source of methionine used, the supplementation level of 0.58% of Met + Cys SID promoted improvements in the production indexes, in the internal and external quality of the egg, as well as improved the feather coverage index in laying hens in the production phase. It was also beneficial to the development of the intestinal mucosa, parameters of the uterus and magnum, greater storage of hepatic glycogen and less incidence of hepatic steatosis. Given the relative bioeffectiveness, it can be concluded that birds fed with DLM have higher bioavailability at lower levels of Met + Cys compared to MHA-Ca. However, it was at the 0.58% level with the DLM that the best results were evaluated. However, the MHA-Ca source proved to be more economically viable compared to the DLM source based on the economic parameters evaluated. Therefore, we recommend using the MHA-Ca source with a supplementation level of 0.58

Keywords: sulfurous amino acids; monocarboxylate; bioavailability; MHA-Ca; DL-methionine

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

	Página
1. Recomendações de metionina e Met+Cys para poedeiras leves	24

Capítulo 2

2. Desenho experimental	41
3. Composição das dietas basais experimentais por 42 a 52 semanas e por 53 a 62 semanas, g / kg com base em um consumo de ração de 108 e 109 g para cada fase, respectivamente	42
4. Custos dos ingredientes utilizados na formulação das rações	45
5. Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o consumo de ração CR, a produção de ovos PR, o peso dos ovos PO, a massa de ovo MO, a conversão por massa de ovos CMO e a conversão por dúzia de ovos CDZ, ovos por ave alojada OAA e viabilidade produtiva VIAB	48
6. Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o consumo de ração CR, massa de ovo MO, conversão por massa de ovo CMO e peso dos ovos PO de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade	48
7. Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o índice de gema IG, peso de gema, PEG, cor de gema CG, porcentagem de gema, POG, porcentagem de albúmen, POA, peso do albúmen, PEA, unidade de haugh, HU de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade.....	50
8. Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o índice de gema IG, peso de gema, PEG, cor de gema CG e porcentagem de gema, POG de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade	50

9. Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o peso de casca, PEC, espessura de casca, EC, porcentagem de casca POC, gravidade específica, GE, e Resistência de casca RC de galinhas poedeiras de 42 a 62 semana 52
10. Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o peso de casa PEC e gravidade específica de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade52
11. Consumo de ração(CR), o custo por tonelada de ração (CTR), o custo de arraçamento no período (CA), dúzia de ovos (DZO), o custo de arraçamento por dúzia de ovo (CADZ), custo por caixa de ovos (CCO) e por quilograma de ovo (CKO) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DLM 57
12. Índice de custo médio ICM, o índice de custo médio por kg de ovo ICMKg, o índice de custo médio por caixa de ovo ICMC, a renda bruta média RBM, a Margem bruta MB, a margem bruta relativa MBR, a rentabilidade média RM e o índice de rentabilidade média IRM de galinhas poedeira leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DLM58

Capítulo 2

13. Desenho experimental 71
14. Composição das dietas basais experimentais por 42 a 52 semanas e por 53 a 62 semanas, g / kg com base em um consumo de ração de 108 e 109 g para cada fase, respectivamente72
15. Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo LV, a altura de vilo ALV, a área de superfície de vilo ÁSV, a profundidade de cripta, relação vilo:cripta, e contagem de células caliciformes CC de galinhas poedeiras aos 62 dias de idade. 76
16. Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre largura de vilo LV, a área de superfície de vilo ÁSV, relação vilo:cripta V:C de poedeiras leves de 62 semanas de idade 77

17. Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo LV, a altura de vilo ALV, a área de superfície de vilo ÁSV, a profundidade de cripta, relação vilo:cripta, e contagem de células caliciformes CC de galinhas poedeiras 78
18. Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo LV, a altura de vilo ALV (μm), a área de superfície de vilo ÁSV (cm), a profundidade de cripta (μm), relação vilo:cripta (μm), e contagem de células caliciformes CC de poedeira com 62 semanas de idade..... 80
19. Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e níveis de met sobre a altura de dobra uterínica, ADU, a largura de dobra uterínica LDU, perímetro de dobra uterínica PDU, a altura de prega LPM, largura de prega LPM, perímetro de prega do magno PPM, e espessura de epitélio do magno EPM de galinhas poedeiras leves a 62 semanas de idade..... 83
20. Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e os níveis de Met+Cys sobre a espessura do epitélio do magno EPM de poedeiras leves de 62 semanas de idade..... 84

LISTA DE FÍGURAS

Capítulo 1

	Página
1. Metabolismo da metionina ilustrado e resumido. Adaptado Sakomura et al. (2014)	23
2. Estrutura química das de fontes de metionina. Fonte: criada pelo autor.....	26
3. Absorção intestinal da DLM. Fonte Van et al. 2021.....	28
4. Absorção intestinal da MHA. Fonte Van et al. 2021.....	29
5. três segmentos de uma curva exponencial de dose resposta. Fonte: adaptada Littlel et al 1997.	31

Capitulo 2

7.Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre o peso de ovo e produção de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.....	49
8. Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre porcentagem de gema, peso de albúmen e peso de gema de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.	51
9. Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre o peso da casca e a gravidade específica dos ovos de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.	53
10. Escore de Pescoço de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	53
11. Escore de Peito de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	54

12. Escore de Dorso de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	54
13. Escore de Asa de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis.....	55
14. Escore de Cloaca de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	55
15. Escore de cauda de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	56
16. Escore de Rabo de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis	56

Capítulo 3

17. Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre a largura de vilo e área de superfície de vilo do duodeno de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.	77
18. Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre área de superfície de vilo e relação vilo:cripta do jejuno de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.	79
19. Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre a altura de vilo do íleo de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%......	80
20. Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre as concentrações de glicogênio hepático (GH) em escores:1 (pouca positividade), 2 (positividade moderada) e 3 (positividade intensa) de poedeiras leves com 62 semanas alimentadas.....	81

- 21.** Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre as avaliações do escore de esteatose (EH) em escores: 0 (ausência de esteatose), 1 (pouca esteatose), 2 (esteatose moderada) e 3 (esteatose avançada) 82
- 22.** Fotomicrografias do fígado de poedeiras leves com 62 semanas alimentadas com diferentes níveis Met+Cys Digestíveis nas dietas. **A:**0,46 MHA-CA, **B:** 0,50 MHA-CA; **C:** 0,54 MHA-CA e **D:** 0,58% MHA-CA, **E:** 0,46 DLM; **F:**0,50 DLM; **G:** 0,54 DLM; **H:** 0,58 DLM Coloração histoquímica de Periodic acid Schiff. Barra: 20 µm..... 82
- 23.** Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre a altura de dobra uterínica ADU, altura de prega do magno EPM e espessura de epitélio do magno EPM de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%..... 84

SUMÁRIO

	Página
Considerações Iniciais	16
Capítulo 1	17
Referencial Teórico	17
1. Introdução	18
2. Metabolismo da metionina.....	19
2.1Via de degradação da metionina.....	19
3. Exigência de Metionina + Cistina Digestíveis para Aves Poedeiras	23
4. Fontes Industriais de metionina: DLM e MHA	25
4.1 Absorção e conversão de DLMHA e DLM.....	26
5. Bioeficácia relativa da Mha em relação a DLM em dietas de poedeiras.....	30
6. Referências Bibliográficas	33
Capítulo 2	37
Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo sal de cálcio em comparação a DL-metionina sobre o desempenho de poedeiras leves na fase de produção	37
1. Introdução	40
2. Material e métodos.....	40
2.1Desenho experimental, instalações e dietas.....	40
2.3 Variáveis analisadas	42
2.3.1 Desempenho	42
2.3.2 Qualidade interna e externas dos ovos	43
2.3.2 Escore de plumagem	44
2.3.3 Análise econômica	44
2.4 Análise estatística	46
3. Resultados.....	47
3.1Desempenho produtivo.....	47
3.2Qualidade interna e externa dos ovos.....	49
3.3Escore de plumagem	53
3.4Análise Econômica.....	56

4. Discussão	58
5. Referências Bibliográficas	64
Capítulo 3	67
Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo em comparação a dl-metionina em dietas de poedeiras leves na fase de produção sobre a histomorfometria do intestino e do aparelho reprodutivo	67
1. Introdução	70
2. Material e Métodos	70
2. 1 Desenho experimental, instalações e dietas	71
2.2 Variáveis analisadas	72
2.2.1 Morfometria intestinal	72
2.2.3 Glicogênio e esteatose hepática	73
2.2.4 Morfometria do magno e úter	74
2.3 Análise Estatística	74
3 Resultados	75
3.1 Morfometria do duodeno	75
3.2 Morfometria do jejuno	77
3.3 Morfometria do íleo	79
3.5 Glicogênio e esteatose hepática	81
3.6 Morfometria do útero e magno	82
4. Discussão	85
5. Referências Bibliográficas	90
Capítulo 4	94
Considerações Finais e Implicações	94

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Na literatura há muitas discussões sobre os nutrientes dispendiosos na alimentação das aves, tanto em relação ao metabolismo quanto ao custo financeiro. E a proteína dietética por ser considerada o nutriente mais caro da dieta, faz-se necessário o uso de estratégias, para determinar a quantidade ideal que atenda a exigência nutricional da ave, para assim promover o ganho proteico no metabolismo, melhorar a eficiência da produção, como também evitar custos elevados.

A deficiência de metionina (Met) nos ingredientes de origem vegetal a torna o primeiro aminoácido limitante nas dietas de aves. Além dessa característica Nelson e Cox (2019) afirmaram que a Met interage com outros nutrientes envolvidos no metabolismo proteico. É o principal doador do grupo metil e desempenha importante papel no metabolismo e formação da cisteína e várias outras moléculas. Sendo assim, a Met estimula positivamente o crescimento pela influência na síntese e degradação das proteínas, e com isso, uma dieta deficiente além de reduzir o desempenho das aves, pode estimular o consumo, contribuindo com energia adicional e, conseqüentemente, ocasionar elevação nos custos de produção (RICHARDS et al., 2005).

A indústria disponibiliza a DL-metionina (DLM) como fonte nas formulações de rações como fonte padrão por ter 99% de metionina. O surgimento dos hidróxi análogos de metionina (MHA) por representar 20% (FEEDINFO, 2021) a menos dos custos em relação a fonte padrão, torna o uso de interesse comercial. Todavia, na literatura ainda há muitas controvérsias quanto a bioeficácia desses, que estão sendo utilizados pelos nutricionistas nas suas formulações, variando de 65 à até 100%. De qualquer forma, a utilização de seja qual for das fontes de metionina disponíveis no mercado, deve ser avaliada não só quanto ao aspecto zootécnico e fisiológico, mas também econômico e logístico. Qualquer um destes fatores pode limitar o uso de uma fonte em relação a outra.

O presente trabalho de tese é dividido em 4 capítulos, o 1º teve como objetivo abordar através de uma revisão a fabricação, metabolismo e bioeficácia (BER) das fontes de metionina; o 2º capítulo teve objetivo de determinar a BER da MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de metionina em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade por meio do desempenho produtivo e da análise econômica; o 3º capítulo avaliou a BER através da histomorfometria do aparelho digestivo e reprodutivo, e o 4º capítulo foi apresentado as considerações finais e implicações.

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

Bioeficácia de fontes de metionina para poedeiras leves na fase de produção

1. INTRODUÇÃO

Os ingredientes de origem vegetal, especialmente milho e soja são os principais constituintes da ração na produção avícola, por outro lado, apresentam baixos níveis de metionina em sua composição, não atendendo as exigências nutricionais das aves, sendo assim necessária a inclusão de aminoácidos cristalinos sintéticos. Esse fator faz com que a metionina seja o primeiro aminoácido essencial limitantes nas dietas de poedeiras. No metabolismo a metionina exerce diversos papéis importantes, sendo o principal como doador de grupamentos metil para diversas reações metabólicas, tais como a síntese de cisteína, colina, creatina, poliaminas, fosfolipídios e atua como agente lipotrófico. Ademais, participa da formação e renovação de penas, pelo e pele através da cisteína, atua como regulador de divisão celular, como também protege as células da oxidação favorecendo o status redox. Sendo assim importante para o desenvolvimento e a manutenção corporal das aves (BONATO et al, 2013; CARVALHO et al., 2018).

A forma sintética de metionina é normalmente suplementada pela DL-metionina (DLM, 99% em pó) e ácido 2-hidroxi-4- (metiltio) butanóico (MHAAL) mais comumente disponível como uma solução de 88% com 12% de água, ou através do sal de cálcio em pó 84% (MHA-Ca). Embora essas fontes forneçam atividade L-metionina (L-met) para as aves, essas são quimicamente diferentes, pois o MHA tem um grupo hidroxila no carbono assimétrico, enquanto o DLM tem um grupo amino. Esta diferença química resulta em diferenças substanciais em como e onde as duas moléculas são absorvidas, metabolizadas e convertidas para fornecer L-met ao animal, conforme resumido por Zhang et al. (2015).

Por serem quimicamente diferentes, o termo bioequivalência não é apropriado. Existem certas condições desafiadoras, como estresse oxidativo e térmico, nas quais o MHA fornece um benefício que não pode ser igualado pelo DLM. Quando os compostos diferem em seu metabolismo, como estes, eles não podem ser equivalentes. Eles podem, no entanto, ter a mesma bioeficácia em relação a um determinado resultado, como síntese de proteínas ou disponibilidade de metionina ou até mesmo peso corporal e eficiência alimentar. Portanto, é mais apropriado usar o termo bioeficácia ou biodisponibilidade quando compostos quimicamente diferentes estão sendo comparados. Ambas as formas de metionina estão disponíveis comercialmente e são usadas em sistemas de produção animal há mais de 50 anos; No entanto, ainda há controvérsia e confusão com respeito à bioeficácia relativa. Esta situação é alimentada pela publicação de comparações de produtos individuais, bem como compilações de resultados publicados anteriormente com conclusões aparentemente conflitantes

(VÁZQUEZ-AÑÓN et al., 2006a; SAUER et al., 2008; VEDENOV; PESTI, 2010). Foi suposto que a grande discrepância nos valores de bioeficácia entre os estudos se deve ao fato de as duas fontes de metionina terem diferentes valores de bioeficácia, dependendo de onde estão em suas curvas de respostas de dose individuais e, portanto, nenhum valor de bioeficácia relativa único pode ser determinado. Sendo assim, o objetivo desta revisão foi resumir o que se sabe sobre as semelhanças e diferenças desses compostos, como são metabolizados e usados pelo animal para apoiar o crescimento e o impacto dessas propriedades em suas curvas de dose-resposta.

2. METABOLISMO DA METIONINA

A suplementação de aminoácidos nas dietas de aves tem sido praticada na nutrição animal como um meio de melhorar a utilização das proteínas alimentares. Bertechini (2012) frisou que a necessidade dos aminoácidos se dá pela sua essencialidade, ou seja, os aminoácidos essenciais por não serem sintetizados pelo organismo em velocidade suficiente ao atendimento máximo desempenho e necessitarem de muitos passos metabólicos para sua biossíntese, são considerados indispensáveis na dieta, de modo que, sua ausência impede o organismo de sintetizar proteína de forma eficiente, impedindo que a ave expresse seu potencial de produção. Com isso, os aminoácidos essenciais tornam-se limitantes quando não atendem a necessidade mínima da ave, haja vista, que o nível na dieta é inferior a necessidade da ave para realização da síntese proteica.

A metionina pode ser considerada um dos aminoácidos mais importantes para os animais, devido às suas diferentes funções no organismo animal, , como a síntese de proteína corporal; metilação do RNA, devido a ligação com o RNA mensageiro, formando o N-formilmetionina para iniciar a síntese de proteínas e lipídeos; síntese de glutathione, o principal antioxidante presente no citosol das células; síntese de poliaminas (espermidina e espermina), importantes na divisão celular; síntese de H₂S, que possui ação anti-inflamatória; síntese de creatina (fosfocreatina) tampão energético no músculo esquelético; síntese de carnitina e succinil-CoA. Além disso, a metionina é um aminoácido importante na doação de enxofre, essencial para a formação de cisteína, que proporciona o crescimento e manutenção das penas (MACKAY et al., 2012; REZZI et al., 2007; NICHOLSON et al., 2008). Diante disso, se faz necessário o estudo mais aprofundado do metabolismo para um bom entendimento dos processos os quais a metionina é importante no organismo.

2.1 Via de Degradação da Metionina

A metionina dietética é degradada em rota metabólica que envolve várias reações químicas, gerando vários metabólitos que foram citados anteriormente. A forma funcional como nutriente desse aminoácido é a L-met, porém a metionina apresenta-se nos isômeros D e L, o que faz necessário a conversão para a forma ativa do aminoácido (ROMBOLA, 2008). Segundo D'Mello (2003), para a conversão dos D-aminoácidos em L, são necessários dois passos: primeiro o D-isômero deve ser submetido à desaminação oxidativa para o análogo de alfacetoácido correspondente; segundo, é submetido a uma reaminação L-específica por meio de uma reação de aminotransferases.

Após a absorção a metionina dietética é degradada em uma rota metabólica envolvendo várias reações químicas, na qual são formados vários metabolitos, dentre eles a homocisteína que é um intermediário no processo de reações de transmetilação da metionina. A metilação ocorre quando a enzima metionina-adenosil-transferase catalisa a transferência da adenosina, proveniente de uma molécula de ATP para a metionina, transformando-a em S-adenosil-L-metionina (SAM). A SAM pode sofrer ação da enzima glicina N-metiltransferase, que catalisa a reação que transfere o grupamento metila (CH_3) da SAM para a formação de sarcosina, utilizando como produto a glicina, portanto a SAM passa a ser S-adenosil-homocisteína (SAH). Por fim, o grupo adenosina deixa a molécula de SAH, a qual reage com uma molécula de água, com apoio da enzima adenosil-homocisteína-hidroxilase, formando a homocisteína (STIPANUK, 2004; MUDDM BROSAN, 2007; WILLIAMS; SCHALINSKE, 2007).

Após a metilação e síntese de homocisteína, esse composto poderá seguir duas vias, a via da remetilação, através da formação de uma nova metionina, que ocorre em todos os tecidos e em parte no fígado ou ser metabolizada no processo de transulfuração pelo fígado, rins, intestino delgado e pâncreas (BROSAN et al., 2004).

A remetilação é o processo em que ocorre a introdução de um grupamento metil na molécula de homocisteína, a qual retorna ao produto original do ciclo, a metionina, que ocorre quando a homocisteína recebe o grupamento metila através de dois ciclos, o do folato, em que o doador é o N^5 -metiltetraidrofolato, que após sofrer ação da enzima metionina-sintase o libera para a inserção na molécula de homocisteína, ao final do ciclo se tem a formação de metionina e de tetraidrofolato que depois de oxidado atua na síntese de nucleotídeos. A outra via é através da betaina, dependente de colina, em que a enzima betaina-homocisteína-metil-transferase catalisa o grupo metil da betaina, formando a metionina e dimetilglicina. Todavia, essa via é a menos eficiente devido a distribuição de BHMT ser limitada pelo organismo (NELSON; COX, 2014; OLIVEIRA NETO, 2014).

É importante ressaltar a importância da homocisteína para o organismo, em que a doação do grupo metil pela homocisteína, favorece: a formação da creatina, através do ácido guanadino-acético formado nos rins e transportado para o fígado, onde recebe o grupo metil da SAM. A creatina representa um dos compostos contendo nitrogênio mais importantes no metabolismo energético (HARRIS et al., 1992); formação da fosfatidilcolina, devido a metilação da fosfatidiletanolamina N-metil-transferase com a SAM. A fosfatidilcolina é necessária para a formação de partículas de lipoproteína, que são responsáveis por entregar lipídios exógenos de enterócitos e lipídios endógenos do fígado (CLARIE, 2012); e a formação de sarcosina (N-metil-glicina) a partir de glicina, reação catalisada pela enzima glicina N-metil-transferase. Esse aminoácido é um intermediário no metabolismo da colina e glicina (CENTENO et al., 2009).

A homocisteína participa da formação de poliaminas, através da reação química entre a SAM descarboxilada com a putriscina, pela ação da enzima propilaminotransferase I, formando a espermidina, que, por sua vez juntamente com a uma molécula de SAM descarboxilada, produz a espermina, pela enzima propilaminotransferase II. De forma geral, as poliaminas (putriscina, espermidina e espermina), são encontradas em altas concentrações em locais onde existe elevada divisão celular. Sendo assim, devido a agressão decorrentes do contato do alimento consumido e da presença de microrganismos que causam inflamação e infecção, o epitélio intestinal está em constante renovação celular. Assim, pode-se inferir que o intestino possui elevada produção de enterócitos e de células do sistema imune, constantemente, necessitando de grandes quantidades de poliaminas para executar essa função normalmente (GRIMBLE, 2002 e ARTIS, 2008).

Quando a concentração de metionina está em níveis altos, a SAM ativa a enzima cistationina- β -sintase, a qual estimula assim a via da transulfuração. A transulfuração possui duas funções principais: a primeira é através da transferência do grupo enxofre (S) da metionina para a L-serina, formando uma molécula de cisteína. O primeiro passo para a transulfuração envolve uma reação irreversível entre a homocisteína e L-serina, catalisada pela enzima cistationina- β -sintase, que resulta na formação de cistationina. Que após a enzima cistationina- γ -liase promover a transformação da cistationina há assim a formação da cisteína (PILLAI et al., 2006; MUDD et al., 2007).

Durante a formação da proteína, a cisteína sofre oxidação e se liga com outra molécula de cisteína através dos seus átomos de enxofre para formar a cistina, onde está presente na proteína corporal dos diversos tecidos das aves, principalmente na mucina e nas penas. No processo de transformação da metionina em cistina, aproximadamente 50% da homocisteína é convertida irreversivelmente à cistationina e assim cistina (FINDELSTEIN, 1998). Tesseraud et al. (2009) relataram que a cistina é fundamental para a formação de tecidos importantes como

pele e penas, por participar da síntese de queratina, proteína estrutural que compõe grande parte desses tecidos, já que aproximadamente 90% das penas consistem em queratina, que é uma proteína estrutural fibrosa e insolúvel que consiste em espirais β - helicoidais unidas por ligações dissulfeto). A cistina também promove a formação de glóbulos brancos e vermelhos, ativadas pelo sistema hematopoiético. Como também faz parte do sistema imune, auxiliando na cicatrização e fortalecimento do tecido conjuntivo (GIOPPPO et al., 2009)

A cistina é precursora de taurina, um estabilizador de membrana celular, que regula o fluxo de cálcio, controlando a estabilidade celular. A taurina também possui atividade antioxidante na célula e regula a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Além de ajudar a formar os sais biliares, importantes na digestão de lipídios (KONTNY et al., 2000; GRIMBLE, 2002; NELSON; COX, 2019). A cisteína faz parte da formação de glutathione (GSH), através da ligação entre o aminoácido glutamato e cisteína, por intermédio da enzima γ -glutamylcisteína sintetase, resultando em γ -L-glutamyl-L-cisteína. Após ocorrer a ligação com a glicina, pela ação da enzima glutathione sintetase (GSS). A GSH é o sistema antioxidante mais abundante nas células animais. As principais funções da GSH incluem seu papel antioxidante no citosol, no metabolismo de nutrientes, na expressão de genes, na síntese de proteínas e DNA na proliferação celular, na sinalização celular para controlar a apoptose, no sistema imune e na glutathionização de proteínas (BAUCHART-THEVRET; STOLL; BURRIN, 2009).

Há uma estimativa de que cerca de 50% da produção da glutathione é de origem da homocisteína, através da rota de transsulfuração, em que o aumento das condições de estresse oxidativo, é requisitado maior produção de glutathione, e assim, maior atividade da glutathione β -sintase, ocorrendo maior expressão desta enzima (MOSHAROV et al., 2000). Os resultados de Persa et al. (2004) confirmam que a presença de radicais livres pode induzir a super expressão de CBS e inibir a metionina sintase, estimulando assim a transsulfuração e maior produção de cisteína e glutathione.

Além da importante participação da metionina na síntese da glutathione, alguns estudos demonstram o efeito antioxidante direto da metionina sobre o estresse oxidativo. As células quando estão sobre o estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio reage com resíduos de metionina formando metionina sulfóxido, no entanto, a maioria das células contém a enzima metionina sulfóxido redutase, a qual catalisa a metionina sulfóxido de volta à metionina (STADTMAN et al., 2005; MOSKOVITZ et al., 2001; LEVINE et al., 2000).

A segunda função principal da transsulfuração é na produção de energia. Por ser um aminoácido glicogênio, a metionina pode ser convertida em succinil-CoA, e através do ciclo do ácido cítrico convertido em piruvato, dando origem assim a via gliconeogenica (NELSON;

A literatura indica que a utilização de níveis de metionina + cistina (Met+Cys digestíveis) que atendam a exigência das aves permite um aumento no teor de proteína bruta do albúmen e gema, além de influenciar positivamente na produção de ovos, tamanho de ovo e massa de ovo produzido, além de melhorar a conversão alimentar por massa ou por dúzia de ovos (CARVALHO et al., 2018).

Souza et al. (2015) verificaram que os melhores índices de gema, de albúmen e unidade Haugh são encontrados em maiores consumos de Met+Cys digestíveis como também, observaram que o aumento no consumo dos aminoácidos sulfurosos, causa aumento no peso dos ovos, esse aumento por sua vez, tende ao maior efeito sobre a gravidade e as mensurações da altura da gema e do albúmen. Domingues et al. (2016) também relataram que o aumento crescente dos níveis de aminoácidos sulfurados na ração não altera a qualidade da casca dos ovos. Por outro lado, Santana (2014) obtiveram redução à medida que os níveis dos níveis de aminoácidos sulfurados foram aumentados sobre a porcentagem da casca. A maior porcentagem de gema com o aumento dos níveis de Met+Cys digestíveis pode estar relacionada à formação da colina a partir de metionina, somada aos fosfolipídios para formar as lipoproteínas da gema.

É possível observar que as recomendações nutricionais para galinhas poedeiras são constantemente atualizadas, especialmente devido as mudanças em sua capacidade produtiva ao longo do tempo. Dessa forma, a importância de uma nutrição adequada para aves é fundamental para uma produção eficiente de ovos, especialmente no aspecto nutricional, a fim de se produzir ovos de valor nutricional.

Recomendações providas do National Research Council (NRC), artigos publicados e manuais de linhagem, sugerem níveis de Met+Cys digestíveis com diferenças significantes (Tabela 1). Sabe-se que nestas formulações também são colocados valores de suplementação que superestimam o requerimento da ave, para garantir o sucesso na produção, independente das condições ambientais em que os animais estão sendo alojados. A principal consequência é o desbalanço nutricional, que pode resultar em excreção de nutrientes de maneira excessiva, causando desperdício e poluição ambiental. Contudo, é notório observar que ao passar dos anos foi-se aumentando a ingestão de alimento, como também o teor de proteína bruta, metionina e metionina+cistina digestíveis das poedeiras, para assim haver um acompanhamento do avanço nas genéticas das linhagens produzidas.

Tabela 1- Recomendações de metionina e Met+Cys para poedeiras leves

Referência	Consumo de ração	PB %	EM Kcal/kg	Metionina mg	Met+Cys mg
NRC (1994)	100	15,00	2900	250	480
Rostagno et al., (2011)	90	16,5	2900	368	670
Rostagno et al., (2017)	97,6	14,39	2900	431	783
Manual Hy-line W80 (2016)	103	16,00	2955	424	763
Manual Hy-line W80 (2019)	105	17,40	2900	405	729

Fonte: criada pelo autor

Essas diferenças nas variações da exigência de Met+Cys digestíveis também pode estar associada à fatores como: idade, peso das galinhas, o nível de produção, características ambientais. Além disso, em alguns trabalhos, as menções das estimativas das exigências não são feitas numa base digestível ou total (GOMES; ANGELES, 2016). Estes autores estudando os níveis de metionina+cistina em poedeiras observaram que os requisitos para a produção de ovos, massa de ovos e eficiência alimentar foram de 0,50, 0,51 e 0,50%, respectivamente.

Carvalho et al. (2017) observaram crescimento linear no consumo de Met+Cys aos níveis de 0,465 a 0,647%. Contudo, para a garantia de resultados ótimos de produção, peso e massa de ovos, eficiência alimentar e ganho de peso, os níveis de 0,638, 0,654, 0,647 e 0,613% de Met+Cys digestíveis são eficientes. Contudo, esses ainda verificaram que altos níveis de Met+Cys dietéticos influenciam negativamente a qualidade da casca do ovo. Geraldo et al. (2010) também observaram que o melhor nível para qualidade de casca foi o menor estudado por estes, de 0,578% de Met+Cys. Dessa forma, é importante destacar a importância de ensaios com dose respostas avaliando os efeitos dos níveis variados de Met+Cys digestíveis para assim melhor estimar o nível ideal para a maximização do desempenho da ave.

4. FONTES INDUSTRIAIS DE METIONINA: DLM E MHA

A metionina foi isolada pela primeira vez por Mueller em 1922, através de produtos hidrolíticos da caseína. Posteriormente, o mesmo aminoácido foi encontrado por Barger e Coyne (1928) e Du Vigneaud e Meyer (1931), através da levedura e de hidrolisado de caseinogênico, respectivamente. A fórmula química foi identificada como ácido metiltio α -aminobutírico por Barger e Coyne, em 1928 (PIRIE, 1932).

Na atualidade, os principais produtores de metionina cristalina são Evonik Degussa (Alemanha), Novus International (Estados Unidos), Adisseo (França) e Sumitomo (Japão). A metionina produzida industrialmente consiste principalmente em DLM, que é produzida por síntese química a partir do metilmercaptano, acroleína e cianeto de hidrogênio (LÜSSLING et al., 1981; PACK, 2004), que é caracterizado como um composto de aldeído etílico obtido pela desidratação da glicerina por bactérias, que passa reações químicas até chegar na formação de DLM, apresentando rendimento de até 95% da base em acroleína (WEISSERMEL; ARPE, 1993).

A metionina é um aminoácido do grupo apolar e sulfurado, pois contém enxofre no seu radical e pode ser encontrada em quatro formas sintéticas: DL-Metionina (DLM), mistura

racêmica entre as formas L (50%) e D (50%) em pó que apresenta 99% de atividade; DL-Metionina- Na (DLM-Na), mistura racêmica entre as formas L (50%) e D (50%) do sal de sódio na forma líquida, com 40% de atividade (Figura 2). Além das formas citadas, a indústria dispõe dos análogos de hidróxi de metionina que são fabricados através da síntese da DLM. O processo de obtenção dos análogos constitui a formação da metional, que é obtido a partir da acroleína e metilmercaptano. A metional reage com o cianeto de hidrogênio produzindo um intermediário, o hidroximetiltiobutironitrilo (ETIM NAN et al., 2014).

O diferencial no processo entre a MHA e DLM é a incorporação com o cianeto de hidrogênio, por esse motivo o grupo amino não é incorporado na substância. A reação final consiste em hidroximetiltiobutironitrilo hidrolisado ao análogo de hidróxi de metionina (YAMAMOTO, 1978). Nesse processo de produção, há duas formas dos análogos disponíveis comercialmente, a metionina hidróxi-análogo ácido livre, (MHA-AL) e a metionina hidróxi-análogo sal de cálcio (MHA-Ca). A MHA-AL, na forma líquida é autorizada no mercado com um mínimo de 88% de dímeros de metionina e 12% de água ((C₅H₁₀O₃S), enquanto a MHA-Ca em pó, é autorizada com um mínimo de 84% de metionina, 11,7% de cálcio e um máximo de 1% de água (C₅H₉O₃S)₂Ca (Figura 2) (EFSA, 2012). Essas diferenças na estrutura química entre as fontes vai interferir na forma de utilização pelo organismo das aves, assim é importante analisar essas diferenças e como elas apresentam impacto da disponibilidade de metionina.

DL-metionina (DLM)	DL-metionina Na (DLMNa)	Metionina hidróxi-análoga (MHA-FA)	Metionina hidróxi-análoga (MHA-Ca)
$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \\ 99\% \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{NH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \text{Na}^+ \\ 40\% \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{COOH} \\ 88\% \\ 12\% \text{ H}_2\text{O} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{COO}^- \text{Ca}^{2+} \\ 84\% \\ 12\% \text{ Ca} \end{array} $

Figura 2- Estrutura química das de fontes de metionina. Fonte: criada pelo autor

4.1 Absorção e Conversão de DLMHA e DLM

Os aminoácidos podem ser absorvidos através da membrana borda em escova e membrana basolateral, existindo algumas diferenças entre os dois locais de absorção. A membrana borda em escova é saturável, pois depende de carreadores; possui velocidade de absorção específica para cada aminoácido, de acordo com a afinidade pelos carreadores, dependendo ou não do gradiente de sódio (Na^+), porém este transporte ocorre principalmente por transporte ativo dependente de Na^+ . Além disso, no transporte através da membrana apical pode ocorrer competição para um mesmo carreador entre moléculas estruturalmente relacionadas, causando inibição na absorção de alguns aminoácidos. O processo de absorção da membrana basolateral apresenta outros transportadores que também dependem ou não de Na^+ . A membrana basolateral é mais permeável aos aminoácidos que membrana da borda em escova; o principal mecanismo de transporte ocorre passivamente por difusão facilitada; e a difusão simples é a via mais importante, principalmente para aminoácidos hidrofóbicos (BURINI, 1993; FREITAS; DUTRA, 1995).

Para se ter uma função biológica ativa as fontes de metionina precisam ser convertidas em isômeros L, para ser metabolizada pelo organismo. Essa conversão ocorre com a conversão dos isômeros D em um cetoácido intermediário, o ácido 2-oxi-4-(metiltio) butanóico ou ceto-metionina através da L-hidroxiácido oxidase e uma D-aminoácido oxidase respectivamente em peroxissomos encontrados principalmente no fígado e rim e outros tecidos incluindo do trato gastrointestinal, músculo e cérebro (MCCOLLUM et al., 2000; DIBNER; KNIGHT, 1984). A enzima específica para L-MHA é a L-2-hidroxi ácido oxidase (L-HAOX), encontrada nos peroxissomos do fígado e rins das aves. A D-MHA requer a enzima mitocondrial D-2-hidroxi ácido desidrogenase (D-HAD) encontrada em vários tecidos, incluindo fígado, rins, músculo esquelético, intestino, pâncreas, baço e cérebro. Contudo, o transporte estereoespecífico de L-MHA e L-metionina são translocados através do mesmo transportador. Quanto aos transportes nas formas em DLM e MHA devido as diferenças nas estruturas químicas, a qual a MHA possui um grupo hidroxila ao invés de um grupo amina torna essa molécula semelhante as de monocarboxilato do que um verdadeiro aminoácido. Na verdade, a DLM é transportada pela família de transportadores de aminoácidos, enquanto se acredita que a MHA seja transportada por um mecanismo diferente envolvendo transportadores de monocarboxilato (MARÍN-VELEGAS et al., 2007)

Por ser um aminoácido neutro, a metionina pode ser transportada por várias rotas, incluindo dependentes de sódio (Sistema ASC, sistema B^0 , sistema $\text{B}^{0,+}$ e sistema L). embora a metionina possa ser transportada por vários transportadores (MASTROTORATO et al., 2016), na Figura 3 resume os transportadores intestinais ligados a DLM mais importantes após

levar em consideração a cinética do transportador fisiológico, as implicações relevantes na nutrição e a expressão gênica. Segundo Van et al. (2021) o modelo esquemático de transporte de metionina mantém uma baixa concentração intracelular de Na^+ para criar um gradiente através da membrana apical que suporta o cotransporte de metionina através do Na^+ . Em baixas concentrações, a captação de metionina pode ser eficientemente facilitada pelo transportador ASCT2 de alta afinidade dependente de Na^+ e ou o transportador 4F2hc / LAT1 de afinidade alta e ou média independente de sódio. Enquanto isso, o rBAT / $\text{b}^0, +$ de alta afinidade independente de Na^+ . Todavia, esse transportador é importante por suportar o influxo de aminoácido catiônicos em troca de metionina. Em altas concentrações, o influxo de metionina é mediado principalmente por $\text{B}^0 \text{AT1}$ de baixa afinidade dependente de sódio.

Ainda na figura 3, Van et al. (2021) observaram que o transporte basolateral parece ser mais simples do que o apical. O transportador LAT4 de baixa afinidade independente Na^+ governa o fluxo de metionina para a corrente sanguínea, ao passo que o transportador 4F2hc / $\gamma + \text{LAT1}$ de alta afinidade permite que a metionina reentre no suporte do metabolismo intracelular e ou possibilite o efluxo catiônico de aminoácidos. As setas azuis indicam os fluxos de Met quando a concentração de metionina é alta no lúmen intestinal. As setas azuis pontilhadas podem desempenhar papéis secundários. Assim que o DLM entrar no pool intracelular, uma grande quantidade será realocada para o lado basolateral para entrar no sangue e uma pequena quantidade será metabolizada ou sofrerá conversão isomérica.

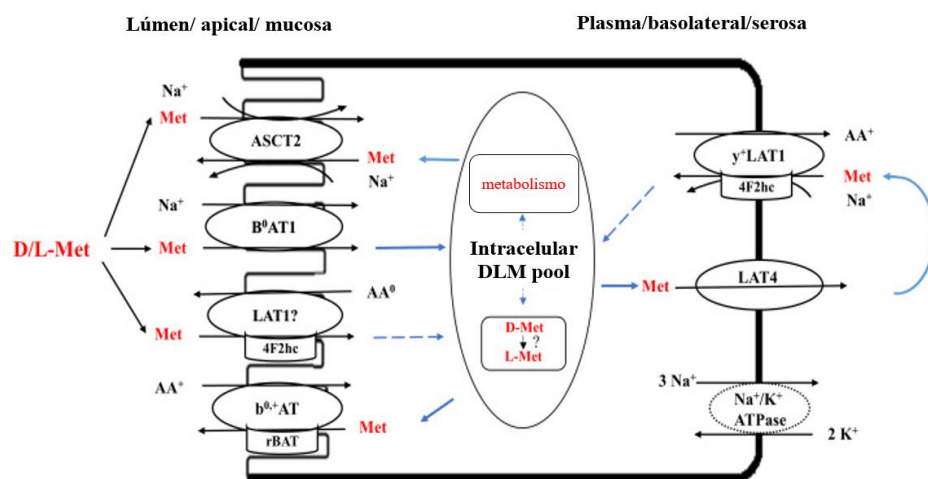


Figura 3- Absorção intestinal da DLM. Fonte Van et al. 2021.

Por ser um ácido orgânico lipofílico, em altas concentrações a fonte MHA, a captação é realizada principalmente por difusão por difusão, enquanto em concentrações mais baixas, o transportador de ácido láctico torna-se importante (MAENZ E ENGELE-SCHAAN, 1996). Os

transportadores de monocarboxilato discutidos abaixo são apenas supostamente considerados responsáveis pelo transporte de MHA, porque este substrato não foi oficialmente estudado em qualquer sistema de expressão de proteína heterogêneo (Figura 4). Segundo Van et al. (2021) como um monocarboxilato, o influxo apical de MHA é possivelmente mediado pelo transportador MCT dependente de prótons (H^+) (provavelmente MCT1) ou dependente de sódio (provavelmente SMCT1). No entanto o efluxo de MHA basolateral pode ser controlado por ambos os processos dependentes e ou independentes de H^+ que envolvem o transportador MCT1 e MCT9. O transporte de MHA usando o gradiente de H^+ provavelmente requer a participação de trocadores de Na^+ / H^+ (NHEs) para manter um pH intracelular estável. A bomba basolateral de sódio-potássio ATPase é necessária para apoiar as atividades adequadas dos NHEs e SMCTs, mantendo um gradiente de sódio adequado.

Os transportadores MCT são encontrados também no intestino grosso, intestino distal devido a consistente fermentação bacteriana que produz ácidos graxos de cadeia curta de monocarboxilato que são absorvidos nesta área (TOPPING; CLIFTON, 2001). Esta capacidade de transportar vários monocarboxilato diferentes, juntamente com a dependência de prótons, apoia o papel do MCT1 na absorção intestinal de MHA. Esta sugestão está de acordo com vários estudos originais que descobriram que o transporte de MHA era dependente do pH em galinhas (MAENZ; ENGELE-SCHAAN, 1996).

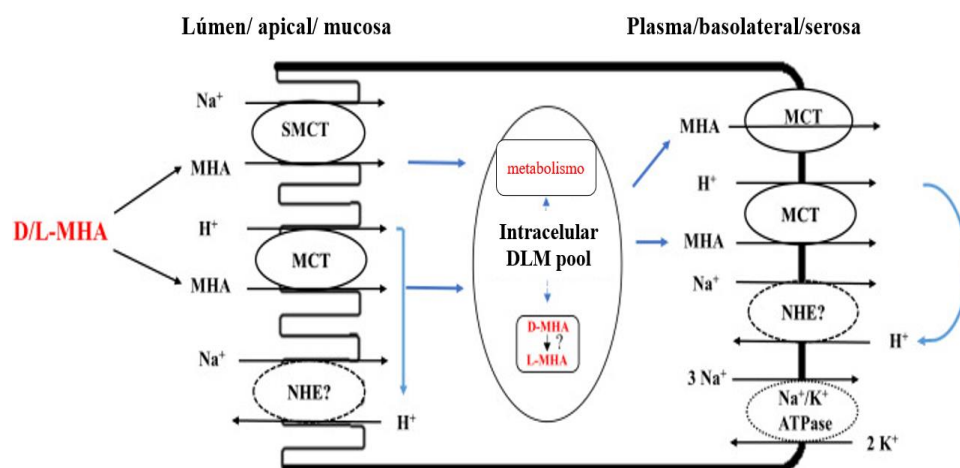


Figura 4- Absorção intestinal da MHA. Fonte Van et al. 2021.

Diante do exposto, devido as particularidades absorptivas das principalmente em relação ao sistema de transporte específico para cada aminoácido pode refletir na velocidade de absorção e assim na biodisponibilidade da metionina para o uso no organismo pelas aves a fim

de canalizar para o aumento do desempenho, assim, pode ocorrer diferenças na bioeficácia relativa das fontes estudadas.

5. BIOEFICÁCIA RELATIVA DA MHA EM RELAÇÃO A DLM EM DIETAS DE POEDEIRAS

O termo bioeficácia se refere à eficiência com que um nutriente ingerido no alimento é absorvido e convertido na sua forma ativa. A bioeficácia é um valor relativo que compara a potência nutricional ou eficácia de um dado nutriente com um padrão definido. Em aves, é relativamente fácil medir diferenças entre as fontes de metionina por diversas razões, primeiro: a metionina é o primeiro aminoácido limitante; segundo: o número de animais ou de repetições por tratamento é relativamente alto; e terceiro: a variação genética entre os indivíduos geralmente é baixa.

Portanto, experimentos de alimentação do tipo dose resposta enfocam parâmetros nos quais o nutricionista está interessado, como o ganho de peso, conversão alimentar. O desempenho é comparado em diferentes níveis de suplementação. Todavia, ao comparar a bioeficácia de qualquer nutriente essencial, só pode esperar detectar diferenças quando a dieta basal é claramente deficiente no nutriente a ser testado (HUYG-HEBAERT, 1993). Além disso, métodos estatísticos apropriados, como análise de regressão não linear simultânea devem ser usados para interpretar os resultados de uma forma que expresse uma estimativa quantitativa imparcial da bioeficácia relativa de uma substância de teste em comparação (LITTEL et al., 1997).

A relação de dose resposta não é linear, mas segue a lei dos retornos decrescentes: a primeira unidade de metionina tem um efeito relativamente potente, isto é, aumenta significativamente o desempenho. Este efeito diminui progressivamente com cada quantidade adicional de suplementação de metionina. Finalmente, atingisse o fornecimento ideal, a partir do qual o desempenho não aumenta mais. Esta curva pode ser descrita com precisão por uma equação exponencial (Figura 5). Nesta equação, “a” é o nível de desempenho obtido com a dieta basal, não suplementada, e “b” toda a melhora do desempenho (resposta), começando do de “a” até a resposta máxima assim (assíntota). O parâmetro “c” é o coeficiente de regressão e descreve a inclinação da curva e “x” representa o nível de suplementação do produto (% da dieta).

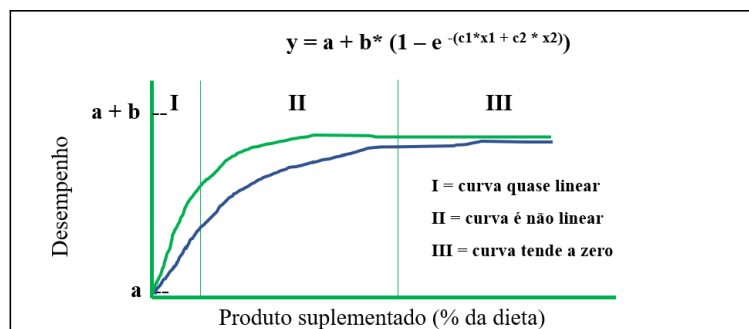


Figura 5- três segmentos de uma curva exponencial de dose resposta. Fonte: adaptada Little et al 1997.

CCL Research, Holanda, (2004) estudando a bioeficácia da MHA-AL100% em relação a DLM65% em dietas de poedeiras observaram que a produção de ovos, o peso de ovo, a massa de ovo e a conversão alimentar não são afetadas pela suplementação da MHA-AL100%. Carvalho et al. (2009) observaram em seus estudos com galinhas poedeiras que o acréscimo dos níveis de Met+Cys proporciona uma maior produção de ovos. Estes autores, verificaram uma bioeficácia relativa de 74,66, 73,97 e 71,17% da MHA-AL em relação a DLM100 na produção de ovos, massa de ovos e conversão alimentar.

Liu et al. (2004) estudando o uso de fontes de metionina em poedeiras observaram que o consumo de ração aumentou em respostas dos níveis elevados de suplementação de metionina. Estes ainda observaram que a produção de ovos, massa de ovo e peso de ovo sofrem influência positiva dos acréscimos dos níveis de metionina. Em que, o nível de 0,060% de MHA-AL e 0,048% de DLM apresentam respostas superiores. A biodisponibilidade baseada nesses parâmetros indicou: 88,7%, 88 e 86% da MHA-AL em comparação com a DLM. Daenner e Bessei (2001) também estudaram níveis de metionina e as fontes de DLM e MHA e verificaram que galinhas suplementadas com 0,231% de MHA-AL apresentam maior produção e maior massa de ovo e melhora na conversão alimentar. Já para o peso do ovo os níveis de 0,15 e 0,154% de DLM e MHA-AL, respectivamente apresentam resultados semelhantes. A bioeficácia relativa da MHA-AL foi de 65% em relação a massa diária de ovos e a taxa de conversão alimentar.

Bateman et al. (2005) verificaram que galinhas poedeiras alimentadas com DLM tiveram respostas satisfatórias quando suplementadas com 0,036%. Estimaram a bioeficácia relativa da MHA-AL em comparação a DLM em 76,98 e 83,33%, quando avaliaram a produção de ovos e a massa de ovo. Souza et al. (2015) verificaram que os níveis de 0,48 e 0,54% de DLM e MHA, respectivamente proporcionaram as poedeiras melhores produções de ovos, peso de ovo, massa de ovo e menor conversão por massa de ovos. Estes analisando o efeito dos níveis

de metionina em função das fontes pudera observar que a MHA apresentou melhor produção de ovos no nível 0,30% de metionina em relação a DLM, por outro lado, a DLM apresentou melhor produção de ovos no nível 0,54%.

Harms e Russell (2003), comparando a bioeficácia da DLM e da MHA-AL em poedeiras comerciais, não observaram diferenças entre as fontes quando compararam a quantidade de metionina necessária para produzir 1 g de ovo, os autores concluíram que, em base molar, a DLM e a MHA-AL possuem a mesma eficiência em poedeiras na fase de produção.

Quanto a relação da Met+Cys digestíveis na alimentação de poedeiras, pode ocorrer interferência na eficiência do uso da MHA-AL em substituir a DLM. Esta bioeficácia pode ser menor para rações deficientes em Met+Cys. Scott et al. (1966) identificaram que a bioeficácia da MHA-AL em relação à DLM foi maior para rações deficientes em Met+Cys digestíveis, seguida de rações deficientes em cistina e adequada em metionina.

Sendo assim, pode-se observar que há uma grande variação na bioeficácia relativa encontrada na literatura, gerando controvérsias entre os trabalhos. A grande confusão gerada em torno da bioeficácia entre os nutricionistas resulta de protocolos experimentais deficientes. A maioria dos experimentos consideram a bioeficácia relativa como arbitrária, o qual atribuem um valor de eficácia pré-estabelecido aos produtos comerciais utilizados na comparação, ou seja, eles consideram que o valor da bioeficácia com da MHA-AL-88% são de 65% e da DLM99% é de 100. Então se faz necessário um estudo mais aprofundado com a comparação entre os dois produtos com base na concentração dos produtos ativos, para assim conduzir uma comparação adequada. Dessa forma, as deitas terão a mesma concentração de metionina digestível. Não somente a MHA-AL, mas a MHA-Ca também deve ser explorada quanto a sua bioeficácia em relação a DLM em dietas de poedeiras comerciais. Diante dessa problemática, nos próximos capítulos serão discutidos a bioeficácia da MHA-Ca em relação a DLM em dietas de poedeiras comerciais leves na fase reprodutiva sobre os parâmetros de desempenhos e histomorfometria intestinal destas aves.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONATO, Melina Aparecida. **Estimativa das exigências de treonina, lisina e metionina+cistina para frangas de postura por meio de modelos**. 2013. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

BROSNAN, J. T.; JACOBS, R. L.; STEAD, L. M.; BROSNAN, M. E. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. **Acta Biochimica Polonica-English Edition**, St. John's, NL, v. 5, n. 2, p. 405-413, 2004.

CARVALHO, T. S. M.; SOUSA, L. S.; NOGUEIRA, F. A.; VAZ, D. P.; SALDANHA, M. M.; TRIGINELLI, M. V.; PINTO, M. F. V. S.; BAIÃO, N. C.; LARA, L. J. C. Digestible methionine+cysteine in the diet of commercial layers and its influence on the performance, quality, and amino acid profile of eggs and economic evaluation. **Poultry Science**, Minas Gerais, v. 97, n. 6, p. 2044-2052, 2018.

CENTENO, M.V. MILLECAMP, M. APKARIN, A. V. Prefrontal cortex and spinal cord mediated anti-neuropathy and analgesia induced by sarcosine, a glycine-T1 transporter inhibitor. **The Journal of the International Association for the Study of Pain**, Chicago, v. 145, n. 1-2, p. 176-183. 2009.

D'MELLO, Felix J. P. **Amino Acids in Animal Nutrition**. Wallingford: 2 ed. formerly Scottish Agricultural College, 2003. 544 p.

DAENNER, E.E.; BESSEL, W. Efectividad de DL-Metionina Hidroxi Análoga (DL-MHA-FA) comparada com DL-Metionina sobre el desempeño de gallinas ponedoras. **Amino News TM**, v.3, n.4, p. 24, 2002.

DIBNER, J.J. and KNIGHT, C.D. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid to Lmethionine in the chick: A stereospecific pathway. **Journal of Nutrition**. Missouri, v. 114, n. 9, p. 1716-1723, 1984.

DOMINGUES, C. H. F.; SGAVIOLI, S.; PRAES, M. F. F. M.; SANTOS, E. T.; Castiblanco, D.M.C.; PETROLI, T. G.; DUARTE, K. F.; JUNQUEIRA, O. M. Lisina e metionina + cistina digestíveis sobre o desempenho e qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **Pubvet**. Londrina, v. 10, p. 1-7, 2016.

EFSA: Scientific Opinion on DL-methionine, DL-methionine sodium salt, the hydroxy analogue of methionine and the calcium salt of methionine hydroxy analogue in all animal species; on the isopropyl ester of methionine hydroxy analogue and DL-methionine technically pure protected with copolymer vinylpyridine/styrene in dairy cows; and on DL-methionine technically pure protected with ethylcellulose in ruminants. **European Food Safety Authority Journal**. Parma, v. 10, n. 3, p. 2623, 2012.

ETIM, N. A. N.; AKPABIO, U.; OKPONGETE, R. O.; OFFIONG, E. E. Do Diets Affect Haematological Parameters of Poultry? **British Journal of Applied Science and Technology**. Ibm State, v. 4, n. 13, p.1952-1965, 2014.

FINKELSTEIN, J. D.; MARTIN, J. J. Methionine metabolism in mammals. Distribution of homocysteine between competing pathways. **Journal of Biological Chemistry**. Washington, v. 259, n. 15, p. 9508-9513, 1984.

FREITAS, O, DOS SANTOS JE, DUTRA DE OLIVEIRA JE. Bases bioquímicas do suporte nutricional enteral. **Archivos Latino-Americano Nutrition**. São Paulo, v. 45, p. 84-89, 1995.

GERALDO, A.; BERTECHINI, A. G.; FASSANI, E. J.; RODRIGUES P. B. Digestible methionine plus cystine levels in diets for laying hens at the production peak. **Arquivos Brasileiro Medecinia Veterinária e Zootecnia**. Minas Geraos, v. 62, n. 5, p. 1216-1224, 2010.

GRIMBLE, Robert F. **sulphur amino acids glutathione and immune function**. In: Nutrition and immune function. Wallingford, cabi Publishing, 2002. 134-150 p.

HARMS R. H.; RUSSELL G. B. Performance of commercial laying hens when fed diets with various levels of methionine. **Journal of Applied Poultry Research**. Florida, v. 12 p. 449–455. 2003.

HARMS, R. H.; HINTON, K. L.; RUSSEL, G. B. Energy: methionine ratio and formulating feed for commercial layers. **Journal Applied Poultry Research**. Florida, v.8, p. 272-279, 1999.

HARRIS R, C.; SODERLUND, K.; HULTMAN E. Elevation of creatinein resting and exercised muscle of normal subjects by creatinesupplementation. **Clinical Science**. Londres, v. 83, n. 3, p. 367-374. 1992.

HOLLENBECK, Clarie B. An Introduction to the Nutrition and Metabolism of Choline. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**. Washington, v. 12, 100-113. 2012.

HUYGHEBAERT, G. Comparison of DL-methionine and methionine hydroxy analog-free acid in broilers by using multiexponential regression models. **British Poultry Science**. 34:351–359. 1993.

KNIGHT, C. D.; DIBNER, J. J. Comparative absorption of 2-hydroxy-4- (methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick. **Journal of Nutrition**. Missouri, v.114. n. 11, p. 2179-2186, 1984.

KONTNY, E.; SZCZEPAŃSKA, K.; KOWALCZEWSKI, J.; KUROWSKA M.; JANICKA, I.; MARCINKIEWICZ, J.; MAŚLIŃSKI, W.; The mechanism of taurine chloramine inhibition of cytokine (interleukin-6, interleukin-8) production by rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes. **Arthritis Rheumatism**. Varsovian, v. 43, n. 10, p. 2169-2177. 2000.

LIU, Z.; BRYANT, M. M.; ROLAND, D. A. Bioavailability estimation of DL-Methionine hydroxy analogue relative to DL-methionine in layers fed Milo-soybean diets using different regression models. **Journal Applied Poultry Research**. Alabama, v. 13, p. 461-467, 2004.

LÜSSLING, T.; MÜLLER, K. P.; SCHREYER, G.; THEISSEN F. **Patent to Deutsche Gold- und Silber-Scheideanstalt formerly Roessler (Degussa): Process for the recovery of methionine and potassium bicarbonate**. US4303621(A), 1981.

MACKAY, D. S.; BROPHY, J. D.; MCBREAIRTY, L. E.; MCGOWAN, R. A.; BERTOLO, R. F. Intrauterine growth restriction leads to changes in sulfur amino acid metabolism, but not global DNA methylation. Yucatan miniature piglets. **Journal Nutrition Biochemistry**, St. John's, NL, v. 23, n. 9, p. 1121–1127, 2012.

MAENZ, D. D. E.; ENGELE-SCHAAN, C. M. A. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are partially converted to nonabsorbed compounds during passage through the small intestine and heat exposure does not affect small intestinal absorption of methionine sources in broiler chicks. **Journal of Nutrition**. Saskatchewan, v. 126, n. 5, p. 1438-1444. 1996.

MASTROTOTARO, L.; SPONDER, G.; SAREMI, B.; ASCHENBACH, J. R. Gastrointestinal methionine shuttle: Priority handling of precious goods. **IUBMB Life**, Berlin, v. 68, n. 12, p. 924 – 934, 2016.

MCCOLLUM, M., VAZQUEZ-ANON, M., DIBNER, J.J. and WEBB, K.E. Absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid by isolated sheep ruminal and omasal epithelia. **Journal of Animal Science** 78: 1078-1083, 2000.

MENDONÇA JUNIOR, C. X.; LIMA, F. R. Efeito dos níveis de proteína e de metionina da dieta sobre o desempenho de galinhas poedeiras após a muda forçada. **Journal Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.30, n. 6, p. 332-3228, 1999.

MOSHAROV, E.; CRANFORD, M. R.; BANERJEE, R. The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. **Biochemistry**. Nebraska, v. 39, p. 13005-13011, 2000.

MUDD, S. H.; BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E.; JACOBS, R. L.; STABLER, S. P.; ALLEN, R. H.; WAGNER, C. Methyl balance and transmethylation fluxes in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 85, n. 1, p. 19–25. 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre, 7 ed. Artmed., 2019, 1272 p.

NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, E. ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**. London v. 29, n. 11, p. 1181–1189, 2008.

NOVAK C.; YAKOUT, H.; SCHEIDELER S. The Combined Effects of Dietary Lysine and Total Sulfur Amino Acid Level on Egg Production Parameters and Egg Components in Dekalb Delta Laying Hens. **Poultry Science**. Nebraska, v. 83, p. 977-984, 2004.

PACK M. **Aminosäuren in der Tierernährung Elements**. Newsletter Degussa Science 06, 2004. 30-33 p.

PARR, J. F.; SUMMERS, J. D. The effects of minimizing amino acid excess in broiler diets. **Poultry Science**. Ontario, v.70, p.1540-1549, 1991.

PERSA, C.; PIERCE, A.; MA, Z.; KABIL, O.; LOU, M. F. The presence of a transsulfuration pathway in the lens: a new oxidative stress defense system. **Experimental Eye Research**. Nebraska, v. 79, p. 875-86. 2004.

PILLAI, P.B.; FANATICO, A.C.; BEERS, K.W.; BLAIR, M.E.; EMMERT, J.L. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline and betaine. **Poultry Science**, Gerogeia, v. 85, n. 1, p. 90-95, 2006.

PIRIE N. W. The preparation of methionine from caseinogen. **Biochemocal Journal**, Cambridge. V. 26, n. 4, p. 1270-1274, 1932.

REZZI, S.; RAMADAN, Z.; FAY, L. B.; KOCHHAR, S. Nutritional metabonomics: applications and perspectives. **Journal Proteome Research**, Lausanne, v. 6, n. 2, p. 513–525, 2007.

RICHARDS, J. D.; ATWELL, C. A.; VAZQUEZ-ANON, M.; DIBNER, J. J. Comparative in vitro and in vivo absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and methionine in the broiler chicken. **Poultry Science**. Missouri, v. 84, n. 9, 1397-1405. 2005.

RIELLA, Miguel Carlos. **Suporte nutricional parenteral e enteral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 137 p.

RODNEY, L.; LEVINE, J. M.; EARL, S. S. Oxidation of methionine in proteins: roles in antioxidant defense and cellular regulation. **IUBMB Life**. Bethesda, v. 50, p.301- 307, 2000.

- ROMBOLA, L. G.; FARIA, D. E.; DEPONTI, B. J.; SILVA, F. H. A.; FILHO, D. E. F.; JUNQUEIRA, O. M. Fontes de metionina em rações formuladas com base em aminoácidos totais ou digestíveis para frangas de reposição leves e semipesadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**. São Paulo, v. 37, n. 11, p. 1990-1995, 2008.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. DE.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. Tabelas Brasileira Para Aves e Suínos. Minas Gerais, 2. ed. Editora UVF, 2011. 252 p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. GOMES, P. C.; OLIVEIRA, R. DE.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Minas Gerais, 4. ed, Editora UFV, 2017. 252 p.
- SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal, 1 ed. Funep, 2014, 186-217, p.
- SCOTT, H. M.; KELLY, M.; HUSTON, R. L. L-methionine versus methionine hydroxy analogue in basais diets containing either isolated soybean protein or crystalline amino acids. **Poultry Sci.** v. 45, p. 1123. 1966.
- SOUZA, R.; LIMA, M. C.; SOUSA, N. A. P.; SILVA, J. H. V.; MELO, T. S.; JORDAO FILHO, J.; LIMA, F. B. S.; SILVA, A. N. Biodisponibilidade da Metionina Hidróxi Análoga relativa à DL-Metionina para galinhas poedeiras. In: 52a Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2015, Belo Horizonte. **Anais**. Zootecnia: Otimizando Recursos e Potencialidades, 2015.
- STADTMAN, E. R.; VAN REMMEN, H.; RICHARDSON, A.; WEHR, N. B.; LEVINE, R. L. Methionine oxidation and aging. **Biochimica et Biophysica Acta**. Bethesda, v. 1703, n. 2, p. 135-140, 2005.
- STIPANUK, M. H. Metabolism of Sulfur-Containing Amino Acids: How the Body Copes with Excess Methionine, Cysteine, and Sulfide. **The Journal of Nutrition**. New York, v. 150, n. 1 p. 539-577, 2020.
- TESSERAUD, S.; COUSTARD, S. M.; COLLIN, A.; SEILIEZ I. Role of sulfur amino acids in controlling nutrient metabolism and cell functions: implications for nutrition. **British Journal of Nutrition**. Nouzilly, v.101, n. 8, p.1132–1139, 2009.
- WEISSERMEL, K.; ARPE, H-J.; **Industrial Organic Chemistry**, VCH, Weinheim, 1993.
- WHEN, C.; CHEN, X.; CHEN, G. Y.; WU, P.; CHEN, Y. P.; ZHOU, Y. M.; WANG, T. Methionine improves breast muscle growth and alters myogenic gene expression in broilers. **Journal of Animal Science**. Nanjing, v. 92, n. 3, 1068–1073. 2014.
- WILLIAMS, K. T.; SCHALINSKE, K. L. New Insights into the Regulation of Methyl Group and Homocysteine Metabolism. **The Journal of Nutrition**. Iowa, v. 137, n. 2, p. 311–314. 2007.
- YAMAMOTO, A., **Encyclopaedia of Chemical Technology**, New York, 3 ed. v. 2, 1978. 403 p.

CAPÍTULO 2

**Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo sal de cálcio em comparação a
DL-metionina sobre o desempenho de poedeiras leves na fase de produção**

Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo sal de cálcio em comparação a DL-metionina sobre o desempenho de poedeiras leves na fase de produção

RESUMO: O objetivo deste estudo foi determinar a bioeficácia relativa das fontes de MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de Met + Cys digestíveis em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade por meio do desempenho produtivo, da qualidade de ovos, do escore de plumagem e da análise econômica. Um total de 1080 poedeiras Hy-line W80 foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, 2 x 4 + 1 (2 fontes de metionina, MHA-Ca e DLM; 4 níveis de suplementação de Met+Cys para cada fonte: 0,46, 0,54, 0,56 e 0,58% e 1 tratamento isento de suplementação de metionina) com 12 repetições e 10 aves por repetição. Houve interação entre as fontes e os níveis no CR (consumo de ração) e PO (peso do ovo). No nível de 0,58% aves que receberam MHA-Ca tiveram o menor CR. e No nível de 0,46% o maior PO foi para DLM. A MO (massa de ovos) e CMO (conversão por massa de ovos) apresentaram respostas quadráticas, 0,59 e 0,62% estimados. A interação entre as fontes para PEG (peso de gema) e POG (porcentagem de gema) 0,58% a MHA-Ca foi superior a DLM. O PEG (peso de gema). A MHA-Ca para o IG (índice de gema) e POA (peso do albúmen) apresentou efeito isolado. Também houve interação para PEC (peso de casca) e GE (gravidade específica), onde no nível de 0,46% a DLM teve o maior PEC. A MHA-Ca apresentou a maior PEC e GE nos níveis de 0,50 e 0,54%. Houve efeito linear descendente para EC (espessura de casca) e POC (peso de casca). A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM para PO, PRO, POG, PEA, PEG, PEC e GE foi de 99 e 97, 87 e 97 e 95, 95 e 91%, respectivamente. Houve maior probabilidade de escores 3 e 4 para pescoço, peito, dorso, asa, cloaca e cauda. Para a análise economia, houve efeito entre os níveis para DZO (dúzias de ovos), no nível de 0,58% as aves alimentadas com MHA-Ca tiveram menor CKg (custo por kg de ração) e CC (custo por caixa de ração) e a melhor MB (margem bruta) RM (rentabilidade média) e IRM (índice de rentabilidade média) em relação a DLM. Independente da fonte de metionina utilizada o nível de suplementação de 0,58% de metionina + cistina digestíveis promoveu melhorias nos índices produtivos, na qualidade interna e externa do ovo, como também, melhorou o índice de cobertura de penas em poedeiras na fase de produção. A fonte MHA-Ca mostrou-se mais economicamente viável em relação a fonte DLM com base nos parâmetros econômicos avaliados. Portanto, recomendamos a utilização da fonte MHA-Ca com nível de suplementação de 0,58%.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurosos; escore de plumagem; índice econômico.

Relative bioeffectiveness of hydroxy calcium salt analogous methionine compared to DL-methionine on the performance of light laying hens in the production phase

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the relative bioeffectiveness of the sources of MHA-Ca compared to DLM at the levels of SID Met + Cys in light laying diets from 42 to 62 weeks of age through productive performance, egg quality, plumage score and economic analysis. A total of 1080 Hy-line W80 layers were distributed in a completely randomized design in a factorial scheme, $2 \times 4 + 1$ (2 sources of methionine, MHA-Ca and DLM; 4 levels of Met + Cys supplementation for each source: 0.46, 0.54, 0.56 and 0.58% and 1 treatment without methionine supplementation) with 12 repetitions and 10 birds per repetition. There was an interaction between sources and levels in CR (feed intake) and PO (egg weight). At the level of 0.58% birds that received MHA-Ca had the lowest CR. and At the 0.46% level, the highest PO was for DLM. The OM (egg mass) and CMO (egg mass conversion) showed quadratic responses, 0.59 and 0.62% estimated. The interaction between the sources for PEG (yolk weight) and POG (yolk percentage) 0.58% at MHA-Ca was superior to DLM. PEG (yolk weight). MHA-Ca for IG (yolk index) and POA (albumen weight) had an isolated effect. There was also interaction for PEC (peel weight) and GE (specific gravity), where at the level of 0.46% DLM had the highest PEC. MHA-Ca showed the highest PEC and GE at the levels of 0.50 and 0.54%. There was a linear downward effect for EC (shell thickness) and POC (shell weight). The bioeffectiveness of MHA-Ca compared to DLM for PO, PRO, POG, PEA, PEG, PEC and GE was 99 and 97, 87 and 97 and 95, 95 and 91%, respectively. There was a higher probability of scores 3 and 4 for neck, chest, back, wing, cloaca and tail. For the economic analysis, there was an effect between the levels for DZO (dozens of eggs), at the level of 0.58% the birds fed with MHA-Ca had lower CKg (cost per kg of feed) and CC (cost per feed box) and the best MB (gross margin) RM (average profitability) and IRM (average profitability index) in relation to DLM. Regardless of the source of methionine used, the supplementation level of 0.58% of digestible methionine + cystine promoted improvements in the production indexes, in the internal and external quality of the egg, as well as improved the feather coverage index in laying hens in the production phase. The MHA-Ca source proved to be more economically viable compared to the DLM source based on the economic parameters evaluated. Therefore, we recommend using the MHA-Ca source with a supplementation level of 0.58%.

Keywords: sulfurous amino acids; plumage score; economic index.

1. INTRODUÇÃO

A metionina é classificada como um aminoácido essencial, sendo considerada o primeiro fator limitante na alimentação das aves alimentadas com rações à base de milho e farelo de soja. No organismo há inúmeras funções biológicas, como a metilação de proteínas e lipídios, o que torna a sua suplementação fundamental para a manutenção, crescimento, desempenho produtivo e para o bom desenvolvimento das penas. Sendo assim, atender os requisitos ideais de metionina de galinhas poedeiras é essencial para otimizar a produção de ovos o que permite o aumentar o teor de proteína bruta no albúmen, elevar a concentração de fosfolipídios total na gema do ovo, proporcionando aumento no peso e massa dos ovos e o que melhora a conversão alimentar. Quando não há atendimento mínimo da exigência da ave, prejuízos podem ocorrer, reduzindo o crescimento, diminuindo a produtividade gerando perdas na economia.

Fontes suplementares de metionina são utilizadas para o atendimento da exigência. O ácido DL-2- amino-4 (metiltio) butanóico (DLM) é o mais utilizado pela indústria, porém, os análogos de metionina DL-2- hidroxí-4 (metilo) butanóico sal de cálcio (MHA-Ca) também pode fornecer metionina após processos de transaminação. Dibner (1983) observou que ambas as fontes são bioquimicamente equivalentes para a síntese de proteínas no fígado. Xie et al. (2007) verificaram que a MHA pode apresentar maior redução na excreção de nitrogênio e menor toxicidade em relação a DLM. Souza et al. (2015) observaram que a MHA pode apresentar maior produção de ovos em poedeiras leves, e reduzir o custo da dieta em 20% em relação a DLM.

Trabalhos avaliando a biodisponibilidade da MHA em relação a DLM podem variar de 60 a 100%. Contudo, em relação ao sal de cálcio MHA-Ca em poedeiras leves esse aspecto ainda não foi bem abordado. Dessa forma o objetivo deste estudo foi determinar a bioeficácia relativa das fontes de MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de Met + Cys digestíveis em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade por meio do desempenho produtivo, da qualidade de ovos, escore de plumagem e da análise econômica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho experimental, instalações e dietas

O experimento foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (Brasil), e aprovado com número de protocolo nº4161290819. A pesquisa foi desenvolvida no Módulo de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, localizado no município de Areia – PB, Brasil. As condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados diariamente durante todo experimento com temperatura média máxima: 27,96°C (30,00°C, maior temperatura encontrada dentro os valores médios), temperatura média mínima: 19,9°C (18,78°C, menor temperatura encontrada dentro os valores médios) e umidade relativa do ar: 73,88% (69,98% menor umidade encontrada dentro os valores médios).

Foram utilizadas 1080 galinhas poedeiras da linhagem Hy-line W80, entre 42 a 62 semanas de idade, com peso inicial médio de $1,613 \pm 0,04$ kg/ave, totalizando 20 semanas de experimento, divididos em nove tratamentos com 12 repetições e 10 aves por repetição. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 4 + 1$ (duas fontes: MHA-Ca e DLM, quatro níveis: 0,46, 0,50, 0,54 e 0,58% e um tratamento isento de suplementação de metionina) (Tabela 2).

Tabela 2- Desenho experimental

Tratamentos	Fonte de metionina	Adição da fonte de metionina (% do produto)	Met+Cys (% da dieta)
1	Controle negativo	-	0,40/0,42
2	Basal + MHA-Ca ¹	0,05	0,46
3	Basal + MHA-Ca	0,10	0,50
4	Basal + MHA-Ca	0,15	0,54
5	Basal + MHA-Ca	0,20	0,58
6	Basal + DLM	0,03	0,46
7	Basal + DLM	0,07	0,50
8	Basal + DLM	0,10	0,54
9	Basal + DLM	0,13	0,58

¹Controle negativo isento de suplementação de metionina. Hidroxi-análogo de metionina (84%)

DLM foi suplementada a 65% da MHA-Ca

As aves foram alojadas em galpão convencional de postura, coberto com telhas de barro, com comedouros tipo calha e bebedouros tipo nipple, agrupadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 33 cm x 40 cm x 45 cm recebendo água e ração à vontade. O programa de luz adotado foi recomendado pelo manual de criação Hy-line W80 – 2016, com 17 de horas luz diária durante todo período experimental.

As rações fareladas a base de milho e farelo de soja foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com o manual de criação (HY-LINE W80, 2016) exceto para

os aminoácidos. Os níveis de metionina foram suplementados através de uma dieta basal com deficiência de Met+Cys digestíveis (com redução de 0,50% ou 500 mg/ave/dia). Todas as dietas foram formuladas com base em aminoácidos digestíveis ileal, preconizadas por (AMINODAT® 5.0 2016) (Tabela 3). A MHA-Ca (84%) foi suplementada em 100%, e a DLM foi diluída em 65% partes da MHA-Ca.

Tabela 3- Composição das dietas basais experimentais de 42 a 52 semanas e de 53 a 62 semanas

Ingredientes	42ª a 52ª semanas	53ª a 62ª semanas
Milho, 7,88%	668.90	675.67
Farelo de soja, 45,22%	198.57	188.74
Calcário calcítico, 37%	9.53	9.49
Óleo de soja	94.98	100.22
Fosfato bicálcico, 19%	18.74	16.72
Sal comum	3.85	3.85
L-Lisina (Biolys®)	0,159	0,159
L-Treonina	1.70	1.59
L-Triptofano (TrypAmino®)	0.18	0.11
Cloreto de colina, 60%	0.01	0.07
Premix Vitaminico ¹	0.75	0.75
Premix Minneral ²	0.70	0.70
Antioxidante ³	0.10	0.10
Inerte ⁴	2.00	2.00
Composição calculada de nutrientes		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2800	2800
Proteína Bruta, %	14,30	13,40
Lisina digestível, %	0,80	0,73
Metionina, digestível, %	0,20	0,19
Metionina + cistina, digestíveis, %	0,40	0,39
Treonina, digestível, %	0,56	0,51
Triptofano, digestível, %	0,17	0,15
Arginina, digestível, %	0,83	0,57
Isoleucina, digestível, %	0,62	0,52
Leucina, digestível, %	1,21	1,15
Valina, digestível, %	0,70	0,64
Cálcio, %	4,08	4,07
Fósforo disponível, %	0,50	0,44
Sódio, %	0,17	0,17
Cloro, %	0,21	0,18
Potássio, %	0,54	0,50
Ácido linoleico, %	1,89	1,64
Balanço Eletrolítico, mEq/kg	150,00	150,00

1Pré-mistura de vitaminas por quilograma de ração: vitamina A: 15 000 000 UI; vitamina D3: 1.500.000 UI; vitamina E: 15 000 UI; vitamina B1: 2,0 g; vitamina

B2: 4,0 g; vitamina B6: 3,0 g; vitamina B12: 0,015 g; ácido nicotínico: 25 g; ácido pantotênico: 10 g; vitamina K3: 3,0 g; ácido fólico: 1,0 g.

2Pré-mistura mínima por quilograma de alimento: Mn: 60 g; Fe: 80 g; Zn: 50 g; Cu: 10 g; Co: 2 g; I: 1 g, selênio: 250 mg. 3Quantum Blue 5000. 4Areia lavada

2.3 Variáveis analisadas

2.3.1 Desempenho

As variáveis analisadas de desempenho foram: consumo de ração (CR, g/ave/dia), produção de ovos (PRO, %), massa de ovo (MO, g/ave/dia), conversão alimentar por massa de ovos e conversão alimentar por dúzia de ovos (CAMO, kg/kg e CADZ, kg/dúzia), ovo por ave alojada (OOA), viabilidade (VIAB, %) peso do ovo (PO, g). O CR foi determinado a partir da diferença do peso obtida entre a quantidade de ração fornecida no início e as sobre as existentes no final de cada fase/ciclo de 28 dias, corrigida de acordo com a mortalidade das aves. A PRO foi calculada pela relação do número de ovos produzidos pelo número de aves alojadas, por período, multiplicado por cem. O PO foi obtido através do cálculo do peso médio dos ovos. A MO foi calculada relação entre a produção de ovos e o peso dos ovos, dividido por cem. A conversão alimentar foi calculada dividindo o consumo de ração (kg/ave) pelo número de dúzias de ovos produzidos (CDZ) e a relação entre a produção de ovos dividida pelo peso dos ovos. O OOA foi calculado através da produção multiplicado pelos dias experimentais, dividido por cem. A VIAB foi obtida pelo número final de aves, multiplicado por cem, dividido pelo número inicial de aves.

2.3.2 Qualidade interna e externas dos ovos

Para os componentes internos dos ovos: índice de gema (IG, %), peso de gema (PEG, g) porcentagem de gema (POG %), cor de gema (CG), peso de albúmen (PEA, g), porcentagem de albúmen (POA, %) e unidade de haugh (UH). O IG foi realizado através da altura da gema multiplicado por 2, dividida pelo diâmetro do ovo. Os PEG e PEA de cada ovo foram determinadas separadamente em balança digital de três dígitos (0,001g). As POG e POA foram determinadas pela relação entre o peso médio da gema e do albúmen sobre o peso médio do ovo. A unidade de UH foi calculada através do modelo proposto por Card e Nesheim (1966), através da equação $UH = 100 \log (H + 7,57 - 1,7W^{0,37})$, onde: UH = unidade Haugh; H = altura de albúmen (mm); W = peso do ovo (g). A altura de albúmen e gema foram realizadas através de um altímetro especial AMES. Para o IG foi utilizado paquímetro universal digital 150mm /0 - 6" Polegadas e a CG realizada por meio do um sensor de cor digital Yolkfan™.

Para os componentes externos dos ovos: peso de casa (PEC, g), espessura de casca (EC, µm), porcentagem de casca (POC, %), gravidade específica (GE, g/cm³) e resistência da casca (RC, kgf). O PEC foi realizado através de balança digital de três dígitos (0,001g). A POC foi determinada pela relação entre o peso médio da casca sobre o peso do ovo. A espessura de casca

foi obtida através da utilização de micrometro digital Mitutoyo de 0-25 mm, com 23 precisão de 0,001 mm. A resistência de casca foi determinada pelo aparelho TA.X T2 (Texture Analyser), onde foi usada a sonda P4 DIA Cylinder de 4 mm de diâmetro, com distância de 6 mm e velocidade pré, durante e pós-teste de 3,0; 0,5. E 5,0 mm/s respectivamente. A gravidade específica foi determinada pelo método de flutuação salina, conforme Hamilton (1982), as densidades variaram de 1,0700 a 1,0975 g/mL, com gradiente de 0,0025.

2.3.2 Escore de plumagem

Para a avaliação da pontuação do escore de plumagem cada ave da parcela recebeu do avaliador experiente pontuações em seis áreas do corpo (pescoço, dorso, peito, asas, cloaca e cauda) usando uma escala de 4 pontos estabelecida por Tauson et al. (2006). A Boa cobertura de penas foi avaliada com 4 e cobertura muito ruim com 1.

2.3.3 Análise econômica

A eficiência econômica de cada tratamento foi avaliada através da estimativa de custos médios com alimentação por quilo e por dúzia de ovos produzidos (BARBOSA et al., 1992). A margem bruta foi considerada através de Figueiredo et al. (1998). Os preços dos insumos foram obtidos na região de Areia, Paraíba - Brasil. Os preços dos aminoácidos premix mineral e vitamínico foram expressos em dólar (R\$ 5,19), através do Site FEEDINFO, cotação do dia 10 do mês de janeiro de 2021 (Tabela 4).

Para obtenção das variáveis utilizadas na análise econômica, foram considerados:

Consumo de Ração, kg/ave (CR) = consumo em g x tempo / 1000;

Custo por tonelada de ração, R\$/ton (CTR) = custo total da ração x 10;

Custo de arração, R\$/ave (CA) = CR x (CT/1000);

Dúzia de ovos, dz/ave (DZO) = (Produção de ovos x tempo) / 12;

Custo de Arração por dúzia de ovo, R\$/dz (CADZ) = CA / DZO;

Custo kg de ovos produzido, R\$/kg (CKg) = CA / kg de ovos;

Custo caixa de ovo produzido, R\$/30 ovos (CC) = CA / n° de caixas de ovos;

A eficiência econômica de cada tratamento também foi avaliada através: índice de custo médio (IMC), representando por:

$$ICM = \frac{CMTA}{MCMAO} 100$$

Onde: CMTA = Custo médio total com arraçamento do tratamento 1. MCMAO = Menor custo médio com arraçamento observado entre os tratamentos;

Índice de custo médio por kg de ovo (ICMK), representador por:

$$ICMKg = \frac{CMKg}{MCMKg} 100$$

Onde: CMKg = Custo médio por kg de ovo produzido do tratamento. MCMKg = Menor custo médio por kg de ovo produzido observado entre os tratamentos;

Tabela 4- Custos dos ingredientes utilizados na formulação das rações

Ingredientes	R\$/Kg
Milho, 7,88%	1,20
Farelo de soja, 45,22%	1,98
Calcário calcítico, 37%	0,12
Óleo de soja	4,87
Fosfato bicálcico, 19%	5,60
Sal comum	0,32
L-Lisina (Biolys®)	2,18
L-Treonina	6,08
L-Triptofano (TrypAmino®)	55,00
Cloreto de colina, 60%	4,16
Premix Vitamínico	13,09
Premix Mineral	3,70
Antioxidante	30,00
Inerte	0,17
DLM	13,62
MHA	10,88

Cotação do dólar: R\$ = 5,55 em 14 de Março 2021

Índice de custo médio por caixa de ovo (ICMC), representado por:

$$ICMC = \frac{CMC}{MCMC} 100$$

Onde: CCO = Custo médio por caixa de ovo produzido do tratamento. MCMC = Menor custo médio por caixa de ovo produzido observado entre os tratamentos;

Renda Bruta média (RBM), representado por:

$$RBM = \frac{VDO}{DZO} 100$$

Onde: VDO = Valor da dúzia de ovos. DZO= Dúzia de ovos, dz/ave;

Margem Bruta (MB), representada por:

$$MB = RBM - CA$$

Onde: RBM = Renda bruta média – Custo com arraçamento;

Margem bruta relativa (MBR), representado por:

$$MBR \frac{MBT \times 100}{MBTC}$$

Onde: MBT = Margem bruta do tratamento x 100. MBT1= Margem bruta do tratamento controle;

Rentabilidade média (RM), representado por:

$$RM \frac{MB}{CA} 100$$

Onde: MB = margem bruta média. CA= Custo de arraçãoamento;

Índice de rentabilidade média (IRM), representado por:

$$IRM \frac{RMT}{RMTC} 100$$

Onde: RMT = rentabilidade média do tratamento. RMTC = rentabilidade média do tratamento controle

2.4 Análise Estatística

Foi utilizado o software SAS (SAS INSTITUTE, 2011) para as análises estatísticas das variáveis de desempenho e qualidade de ovos. Realizou-se análise de variância com teste de T para as fontes e utilizou-se a análise de regressão a 5% de probabilidade para os níveis de metionina, e contraste ortogonal entre os tratamentos. Quando significativo as equações foram demonstradas, e em ajuste de regressão quadrática derivou-se as equações estimando-se os valores de máxima e mínima dos níveis de suplementação de metionina. Foi utilizado o software estatístico R versão 3.5.1 para a análise de score de plumagem. Para tanto procedeu-se com a análise multivariada de regressão logística ordinal pelo procedimento logit cumulativo para estimar as probabilidades relativas dos escores adotados nas variáveis dentro dos níveis de suplementação de metionina nas dietas pela distribuição multinomial dos dados. As técnicas de regressão ordinal modelam as probabilidades cumulativas de que uma dada resposta (Y) se situa dentro ou abaixo de uma dada categoria (j) para todos os valores possíveis de j (AGRESTI, 1996). Quando significativo gerou-se gráficos para demonstrar o comportamento dos dados.

Aos resultados significativos foram submetidos ao modelo exponencial linear foi usado para estimar a bioeficácia do MHA-Ca em relação a DLM. O procedimento geral de modelos lineares (PROC GLM) no software R versão 3.5.1 foi aplicado, ajustando a seguinte equação não linear: $y = a + b \times (1 - e^{-(c_1x_1 + c_2x_2)})$ onde y = resposta (ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de carne de peito), a = interceptar (desempenho mínimo), b =

resposta assintótica, $a + b$ = assíntota comum (nível de desempenho máximo), c_1 = coeficiente de inclinação para DL, c_2 = coeficiente de inclinação para MHA-Ca, e x_1 e x_2 , = nível das fontes, respectivamente, de acordo com Littell et al. (1997).

3. RESULTADOS

3.1 Desempenho produtivo

A Tabela 5 apresenta os resultados de desempenho em valores médios do consumo de ração (CR), a produção de ovos (PRO), o peso dos ovos (PO), a massa de ovo (MO), a conversão por massa de ovos (CMO) e a conversão por dúzia de ovos (CDZ), ovos por ave alojada (OAA) e viabilidade produtiva (VIAB) de poedeiras leves suplementadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis. Houve interação entre as fontes de metionina e os níveis de suplementação CR e PO ($P < 0,05$) (Tabela 6). No nível de 0,58% as aves que receberam DLM apresentaram maior CR comparadas a MHA-Ca. No nível de 0,46 as aves alimentadas com DLM apresentaram maior PO. Ao avaliar os níveis, a MHA-Ca apresentou resposta quadrática, com nível estimado em 0,59%, enquanto as aves alimentadas com DLM tiveram resposta linear ascendente ao aumento da suplementação para a variável de PO.

Nenhuma das variáveis de desempenho apresentou efeito isolado entre as fontes. Com relação aos níveis de suplementação, os parâmetros PRO e OAA apresentaram comportamento linear crescente e a CDZ comportamento linear descendente. Para as variáveis de MO e CMO apresentaram resposta quadrática com níveis estimados em 0,59 e 0,62%, respectivamente. Por meio dos contrastes ortogonais (Tabela 5) observou-se que em todos os níveis de suplementação ambas as fontes utilizadas do aminoácido metionina apresentaram diferença significativa comparados ao tratamento controle. No nível de 0,46% houve diferença significativa entre as fontes para o PO, enquanto no nível de 0,58% houve efeito somente no CR. A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM para peso de ovo e produção foi de 99 e 97% com o modelo exponencial, em base molar (Figura 7).

Tabela 5- Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o consumo de ração (CR), a produção de ovos (PRO), o peso dos ovos (PO), a massa de ovo (MO), a conversão por massa de ovos (CMO) e a conversão por dúzia de ovos (CDZ), ovos por ave alojada (OAA) e viabilidade produtiva (VIAB)

Fontes	Variáveis							
	CR (g)	PRO (%)	PO (g)	MO (g)	CMO (g/g)	CDZ (kg/dz)	OAA	VIAB (%)
MHA-Ca	108,79	87,22	61,08	53,61	2,05	1,51	122,12	98,21
DLM	109,73	87,48	61,13	53,79	2,05	1,52	122,74	97,99
Valor de P¹	0,1104	0,7172	0,8082	0,6696	0,9695	0,8947	0,7172	0,7437
Níveis (%)								
0,46	108,97	85,03	59,26	50,66	2,17	1,55	119,04	97,19
0,50	109,47	87,25	61,04	53,57	2,07	1,53	122,15	97,91
0,54	109,11	88,01	61,74	54,66	2,00	1,49	123,20	98,39
0,58	109,48	89,11	62,37	55,89	1,96	1,48	124,76	98,92
Linear	0,6587	<0,0001 ²	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,001 ⁵	<0,0001 ⁶	0,0572
Quadrática	0,9095	0,4300	0,0054	0,0474 ³	0,0047 ⁴	0,7825	0,4300	0,8776
Fonte*Nível	0,0092	0,7971	0,0409	0,3458	0,3259	0,3073	0,7971	0,8241
SEM	2,25	2,26	0,77	1,61	0,06	0,06	3,76	2,52
C.V. (%)	2,63	3,93	1,61	3,82	4,08	5,35	3,93	3,28
Contrastes								
C x Todos	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0081	<,0001	0,0027
C x MHA0,46	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,4356	<,0001	0,0807
C x MHA0,50	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,2158	<,0001	0,0425
C x MHA0,54	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0226	<,0001	0,0140
C x MHA0,58	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0002	<,0001	0,0022
C x DLM 0,46	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,3458	<,0001	0,0792
C x DLM 0,50	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0598	<,0001	0,0220
C x DLM 0,54	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0296	<,0001	0,0173
C x DLM 0,58	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,0296	<,0001	0,0173
0,46 M vs DL	0,6660	0,9287	0,0334	0,4345	0,3884	0,8697	0,9287	0,9929
0,50 M vs DL	0,0508	0,2991	0,4034	0,1513	0,3423	0,5120	0,2991	0,7868
0,54 M vs DL	0,1789	0,9274	0,2538	0,5427	0,8208	0,5538	0,9274	0,9515
0,58 M vs DL	0,0023	0,8863	0,7442	0,4543	0,0393	0,0960	0,8863	0,4697

1Letras minúsculas diferem entre colunas, Teste T a 0,05% de probabilidade.

2(PRO, $\hat{Y} = 32,5x + 70,45$; $R^2 = 0,94$), 3(MO, $\hat{Y} = 262,5x^2 + 314,95x - 38,574$; $R^2 = 0,98$. Ponto Máx=0,59) 4(CMO, $\hat{Y} = 9,375x^2 - 11,5x + 5,4762$ $R^2 = 1$. Ponto Máx=-0,62) 5(CDZ, $\hat{Y} = -0,625x + 1,8375$; $R^2=0,95$) e 6(OAA, $\hat{Y} = 45,525x + 98,615$; $R^2=0,94$).

Tabela 6- Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o consumo de ração (CR), e peso dos ovos (PO) de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade

Variáveis	Fontes	Níveis de metionina (%)				Regressão	
		0,46	0,50	0,54	0,58	Linear	Quadrática
CR (g/ave/dia)	MHA-Ca	109,22	108,35	109,89	107,70b	0,4167	0,4305
	DLM	108,73	110,60	108,34	111,26a	0,1526	0,5298
	Valor de P¹	0,6748	0,0577	0,1914	0,0031		
PO (g)	MHA-Ca	58,83b	60,87	61,98	62,65	<,0001	0,0181 ²
	DLM	59,70a	61,61	61,51	62,09	<,0001 ³	0,1077
	Valor de P¹	0,0324	0,4001	0,2506	0,1723		

1Letras minúsculas diferem entre colunas, Teste T a 0,05% de probabilidade.

2(PO (MHA-Ca): $\hat{Y} = -214,06x^2 + 254,05x - 12,713$; $R^2 = 0,99$. Ponto Máx=0,59%), 3(PO (DL-Met): $\hat{Y} = 17,675x + 52,036$; $R^2=0,75$)

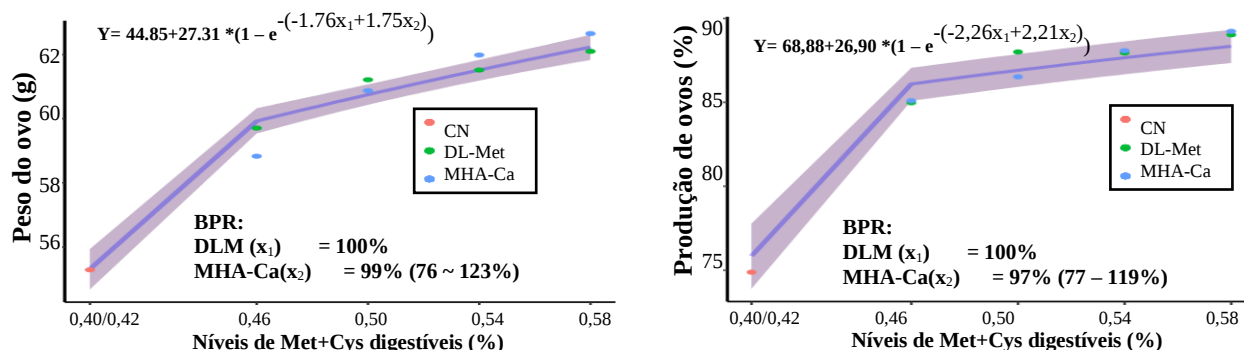


Figura 6-Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre o peso de ovo e produção de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.

3.2 Qualidade interna e externa dos ovos

A Tabela 7 apresenta os valores médios do índice de gema (IG), peso de gema (PEG), cor de gema (CG), porcentagem de gema, (POG), porcentagem de albúmen (POA), peso do albúmen (PEA) e unidade de haugh (HU) de poedeiras leves suplementadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis. Houve interação entre as fontes MHA-Ca e DLM e os níveis de Met+Cys de suplementação para as variáveis de PEG, CG e POG ($P < 0,05$) (Tabela 8). No nível 0,46 e 0,58% de suplementação as aves alimentadas com MHA-Ca apresentaram maior PEG e POG comparadas a DLM. Porém o nível de 0,58% as aves suplementadas com DLM apresentaram melhor CG. Ao avaliar os níveis, a fonte MHA-Ca apresentou efeito quadrático em PEG e CG, com níveis estimados em 0,60 e 0,48% de Met+Cys, respectivamente e resposta linear ascendente para POG. Enquanto a fonte DLM apresentou resposta linear crescente para PEG e resposta quadrática com nível ótimo em 0,54% para CG.

Houve efeito isolado na tabela 7 entre as fontes para variáveis IG e POA ($P < 0,05$). Em relação aos níveis de suplementação de metionina o PEA apresentou comportamento linear ascendente, e o IG comportamento quadrático, com ponto máximo de 0,52% de Met+Cys. Por meio dos contrastes ortogonais foi possível observar que o nível de 0,54 houve efeito para IG em aves alimentadas com MHA-Ca. Ambas as fontes apresentaram diferenças em todos os níveis para as variáveis de PEG, CC, POG e PEA ($P < 0,05$). O nível de 0,46% houve diferenças entre as fontes para as variáveis IG, PEG, CG. Em aves alimentadas com 0,54 e 0,58% houve efeito entre as fontes para IG, PEG, CG e POG. A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a

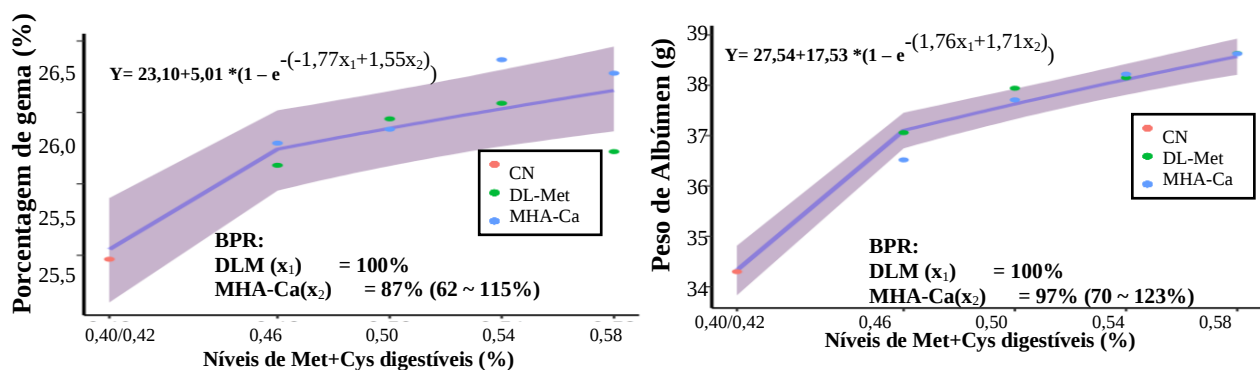
DLM para porcentagem de gema, peso de albúmen e peso de gema foi de 87 e 97 e 95%, respectivamente, com o modelo exponencial, em base molar (Figura 8).

Tabela 7- Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o índice de gema (IG), peso de gema (PEG), cor de gema (CG), porcentagem de gema (POG), porcentagem de albúmen (POA) peso do albúmen (PEA), unidade de haugh (HU) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade

Fontes	Variáveis						
	IG (%)	PEG (g)	CG	POG (%)	PEA (g)	POA (%)	UH
MHA-Ca	0,385b	16,98	7,37a	26,07a	37,76	61,67b	83,82
DLM	0,415a	16,90	7,30b	25,84b	37,94	61,93a	84,03
Valor de P¹	<,0001	0,3662	0,0006	0,0400	0,3230	0,0419	0,3449
Níveis (%)							
0,46	0,406	16,23	7,30	25,70	36,76	62,00	84,06
0,50	0,392	16,84	7,39	25,91	37,82	61,79	83,70
0,54	0,394	17,27	7,38	26,22	38,19	61,77	83,79
0,58	0,409	17,43	7,28	26,00	38,62	61,77	84,16
Linear	0,6014	<,0001	0,2575	0,0201	<,0001 ³	0,2051	0,6790
Quadrática	0,0036 ²	0,0062	<,0001	0,0494	0,0993	0,0769	0,0931
Fonte*Nível	0,0968	0,0480	<,0001	0,0278	0,6228	0,0852	0,2575
SEM	0,02	0,30	0,08	0,45	0,68	0,50	0,83
C.V. (%)	5,86	2,29	1,44	2,03	2,31	1,04	1,26
Contrastes							
CN VS Todos	0,7774	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,5263	0,7357
CN vs MHA0,46	0,2472	<,0001	0,1032	0,0019	<,0001	0,7913	0,9843
CN vs MHA0,50	0,0764	<,0001	0,1533	0,0006	<,0001	0,4024	0,5646
CN vs MHA0,54	0,0085	<,0001	0,0083	<,0001	<,0001	0,2524	0,4671
CN vs MHA0,58	0,0764	<,0001	<,0001	<,0001	<,0001	0,3046	0,1671
CN vs DLM 0,46	0,0516	<,0001	<,0001	0,0115	<,0001	0,7181	0,2623
CN vs DLM 0,50	0,6553	<,0001	0,0011	0,0002	<,0001	0,7775	0,9834
CN vs DLM 0,54	0,3271	<,0001	0,0003	0,0014	<,0001	0,9982	0,5393
CN vs DLM 0,58	0,0017	<,0001	<,0001	0,0039	<,0001	0,5452	0,8511
0,46 MHA x DLM	0,0023	<,0001	<,0001	0,5451	0,1326	0,5219	0,2567
0,50 MHA x DLM	0,1823	0,9253	0,0766	0,7770	0,5181	0,5784	0,5506
0,54 MHA x DLM	0,0004	0,2225	0,2888	0,0341	0,9851	0,6718	0,2317
0,58 MHA x DLM	<,0001	0,0421	0,0181	0,0039	0,2526	0,5902	0,3074

1Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,05% probabilidade. 2 (IG, $\hat{Y} = 4,5312x_2 - 4,685x_1 + 1,6021$; $R^2 = 0,99$. Ponto Máx= 0,52%).

3(PEA $\hat{Y} = 14,875x + 30,113$ $R^2 = 0,93$).



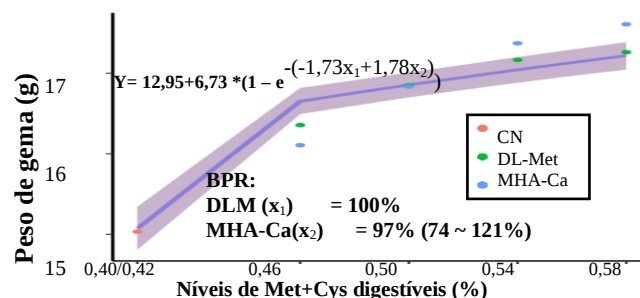


Figura 7- Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre porcentagem de gema, peso de albúmen e peso de gema de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.

Tabela 8- Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o peso de gema (PEG), cor de gema (CG) e porcentagem de gema (POG) de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade

Variáveis	Fontes	Níveis de metionina (%)				Regressão ¹	
		0,46	0,50	0,54	0,58	Linear	Quadrática
PEG (g)	MHA-Ca	16,10	16,83	17,37	17,61a	<,0001	0,0310 ²
	DLM	16,36	16,84	17,16	17,26b	<,0001 ³	0,0798
	Valor de P ¹	0,1178	0,9205	0,1950	0,0311		
CG	MHA-Ca	7,45a	7,43	7,40	7,22b	<,0001	0,0082 ⁴
	DLM	7,16b	7,35	7,35	7,33a	0,0004	0,0010 ⁵
	Valor de P ¹	<,0001	0,0592	0,2578	0,0119		
POG (%)	MHA-Ca	25,78	25,88	26,36	26,27a	0,0120 ⁶	0,5733
	DLM	25,63	25,95	26,06	25,72b	0,6037	0,0546
	Valor de P ¹	0,5214	0,7640	0,2086	0,0252		

1Letras minúsculas diferem entre colunas pelo teste T a 5% de probabilidade. 2(PEG, (MHA-Ca): $\hat{Y} = -76,563x^2 + 92,3x + 10,163$ $R^2 = 0,99$; Ponto Máx 0,60%), 3(PEG, (DL-Met) $\hat{Y} = 7,55x + 12,979$; $R^2 = 0,92$), 4(CG (MHA-Ca): $\hat{Y} = -25x^2 + 24,2x + 1,601$; $R^2 = 0,97$, Ponto Máx 0,48%), 5(CG (DL-Met): $\hat{Y} = -32,813x^2 + 35,4x - 2,1724$; $R^2 = 0,94$; Máx 0,54%), 6(POG (MHA-Ca) $\hat{Y} = 4,875x + 23,537$; $R^2 = 0,78$).

A Tabela 9 apresenta os valores médios de o peso de casca (PEC), espessura de casca (ESC), porcentagem de casca (POC), gravidade específica (GE), e resistência de casca (RC) poedeiras leves suplementadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys. Houve interação entre as fontes de metionina e os níveis de suplementação de Met+Cys para as variáveis de PEC e GE ($P < 0,05$) (Tabela 10). No nível de 0,46% as aves alimentadas com DLM apresentaram maior PEC, e as alimentadas com MHA-Ca nos níveis de 0,50 e 0,54% apresentaram o maior PEC e melhor GE. Ao avaliar os níveis, a MHA-Ca apresentou comportamento quadrático para as variáveis PEC e GE, com níveis estimados em 0,56 e 0,52% respectivamente.

Nenhuma das variáveis de qualidade externa dos ovos apresentaram efeito isolado entre as fontes. Em relação aos níveis, houve efeito linear descendente para EC e POC. Por meio dos contrastes ortogonais observou-se diferenças significativa nos níveis em ambas as fontes para PEC, EC, POC e GE. Aves alimentadas com 0,46 e 0,54% de Met+Cys apresentaram diferenças

entre as fontes para PEC. No nível de 0,50% houve diferença entre as fontes na GE (Tabela 9). A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM peso de casca e gravidade específica foi de 95 e 91%, respectivamente, com o modelo exponencial, em base molar (figura 9).

Tabela 9- Efeitos das fontes MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys sobre o peso de casca (PEC), espessura de casca (ESC), porcentagem de casca (POC), gravidade específica (GE), e resistência de casca (RC) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semana

Fontes	Variáveis				
	PEC (g)	ESC (µm)	POC (%)	GE (g/cm ³)	RC (kgf)
MHA-Ca	6,17	0,468	10,11	1,0902	3,59
DLM	6,15	0,467	10,10	1,0893	3,58
Valor de P ¹	0,4589	0,5390	0,9160	0,2826	0,8220
Níveis (%)					
0,46	6,07	0,470	10,25	1,0912	3,65
0,50	6,16	0,467	10,15	1,0910	3,67
0,54	6,19	0,468	10,02	1,0888	3,51
0,58	6,23	0,465	10,00	1,0880	3,52
Linear	<,0001	0,0499 ²	<,0001 ³	0,0044	0,0584
Quadrática	0,2321	0,8778	0,3635	0,7561	0,9472
Fonte*Nível	0,0006	0,3349	0,2701	0,0296	0,1657
SEM	0,09	0,01	0,16	0,003	0,24
C.V. (%)	1,80	1,69	2,09	0,39	8,56
Contrastes					
CN VS Todos	<,0001	0,0003	<,0001	0,5683	0,3519
CN vs DLM 0,46	0,4338	0,0124	<,0001	0,9135	0,3675
CN vs DLM 0,50	<,0001	0,0133	<,0001	0,0664	0,9537
CN vs DLM 0,54	<,0001	0,0641	<,0001	0,5214	0,6611
CN vs DLM 0,58	<,0001	0,0005	<,0001	0,0946	0,1967
CN vs MHA0,46	0,0007	0,1310	<,0001	0,3468	0,6611
CN vs MHA0,50	<,0001	0,0009	<,0001	0,2063	0,8719
CN vs MHA0,54	0,0011	0,0018	<,0001	0,1861	0,0302
CN vs MHA0,58	<,0001	0,0005	<,0001	0,2358	0,2715
0,46 MHA x DLM	<,0001	0,3086	0,4219	0,2943	0,1817
0,50 MHA x DLM	0,8480	0,3710	0,4553	0,0023	0,8264
0,54 MHA x DLM	0,0046	0,1889	0,1058	0,4931	0,0817
0,58 MHA x DLM	0,1552	1,0000	0,8946	0,6217	0,8466

1Teste T a 0,5% probabilidade. 2(EC, $\hat{Y} = -0,035x + 0,4857$; $R^2 = 0,75$) e 3(CASCA%, $\hat{Y} = -2,2x + 11,249$; $R^2 = 0,93$).

Tabela 10- Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre o peso de casa (PEC) e gravidade específica (GE) de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade

Varáveis	Fontes	Níveis de metionina (%)				Regressão	
		0,46	0,50	0,54	0,58	L	Q
PEC (g)	MHA-Ca	6,00b	6,16	6,26a	6,27	<,0001	0,0217 ²
	DLM	6,13a	6,16	6,12b	6,20	0,2653 ¹	0,5261
	Valor de P ¹	0,0052	0,8403	0,0030	0,1356		
GE (g/cm ³)	MHA-Ca	1,0903	1,0936b	1,0894	1,0876	0,0317	0,0454 ³
	DLM	1,0921	1,0883a	1,0882	1,0885	0,0540	0,1157
	Valor de P ¹	0,3174	0,0037	0,5134	0,6380		

1Letras minúsculas diferem entre colunas, Teste T a 5% de probabilidade ($P < 0,05$). 2(PEC (MHA-Ca): $\hat{Y} = -23,438x^2 + 26,65x - 1,3011$; $R^2 = 0,99$; Máx 0,56),

3(GE (MHA-Ca): $\hat{Y} = -0,7969x^2 + 0,798x + 0,8923$; $R^2 = 0,85$. Ponto Máx=0,52).

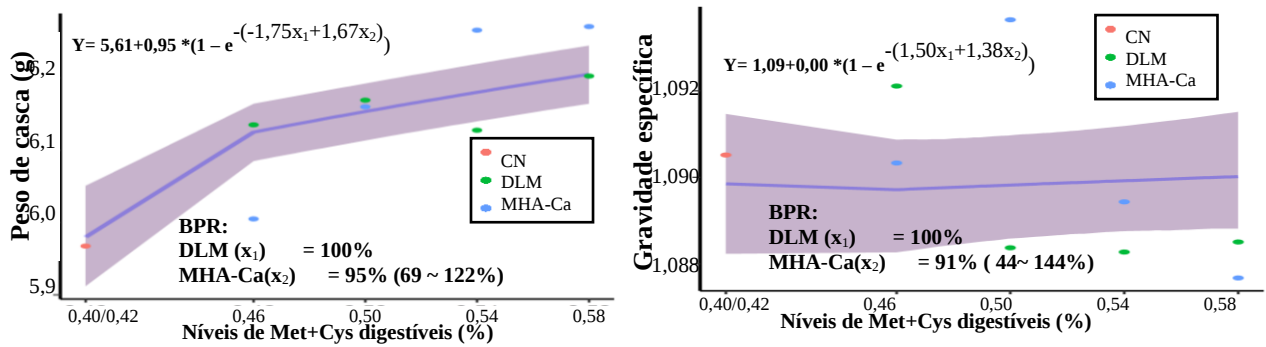


Figura 8- Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre o peso da casca e a gravidade específica dos ovos de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.

3.3 Escore de plumagem

Houve interação entre as fontes de metionina, níveis de suplementação de Met+Cys e o ciclo de produção ($P < 0,05$) para todas as variáveis de escore de plumagem de poedeiras. Aves alimentadas com ambas as fontes apresentaram maior probabilidade na presença de escores 3 e 2 em todos os níveis de Met+Cys digestíveis em todos os ciclos de produção para escore de pescoço. No nível de 0,58% foi observado redução no escore 4 a cada ciclo de produção em aves alimentadas com MHA-Ca (Figura 10).

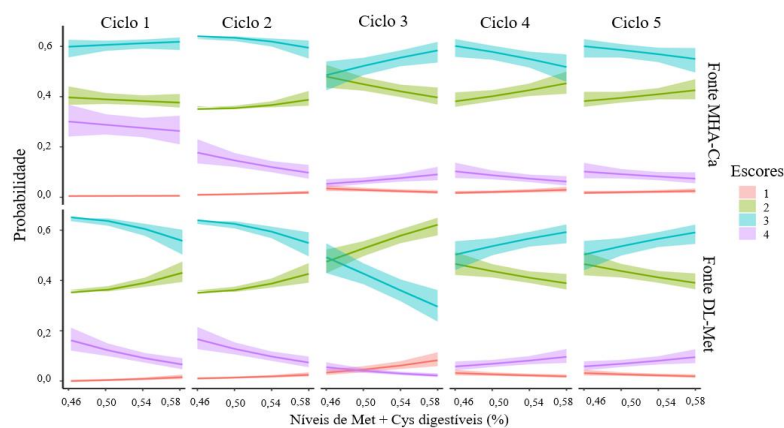


Figura 9- Escore de Pescoço de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

Aves alimentadas com ambas as fontes apresentaram maior probabilidade de escores 3 com o aumento dos níveis de Met+Cys. Aves alimentadas com DLM apresentaram maior redução dos escores 2 e 4 nos escores de Peito (Figura 11). Na avaliação do empenamento do dorso houve uma maior presença de escores 2 e 4 em todos os ciclos de produção em ambas as

fontes. Em aves alimentadas com MHA-Ca aos ciclos 3, 4 e 5 apresentaram maior probabilidade de escore 4 em relação a DLM (Figura 12).

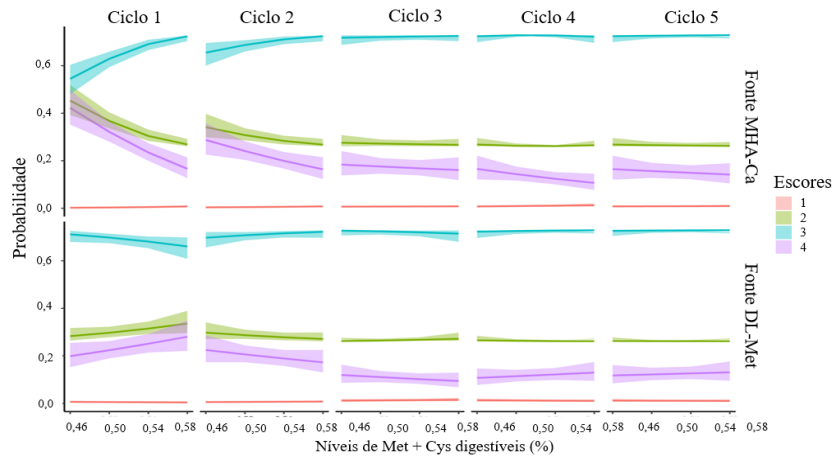


Figura 10- Escore de Peito de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

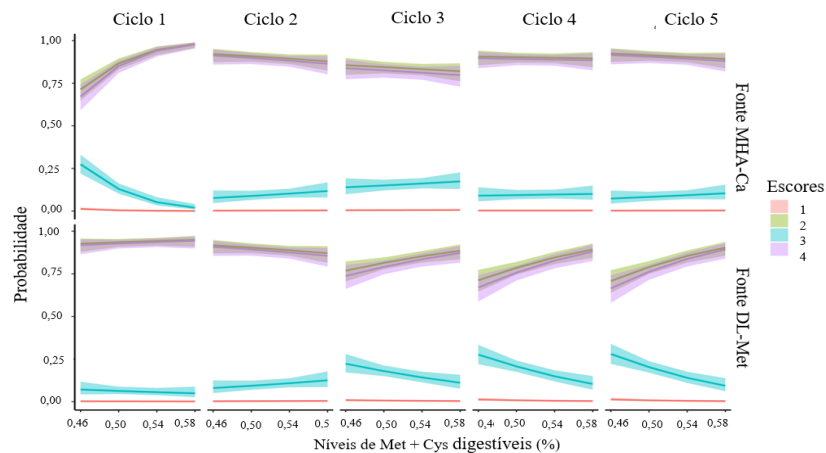


Figura 11- Escore de Dorso de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

Para o escore de asas (Figura 13) ambas as fontes proporcionaram maior probabilidade de escores 2 e 3 em todos os ciclos de produção. Em aves alimentadas com DLM houve maior probabilidade de escore 4 em relação a MHA-Ca aos ciclos 4 e 5 de produção para a variável de escore de Asa. Para escore de cloaca em aves alimentadas com MHA-Ca apresentaram maior probabilidade de pontuações 2 e 4 em todos os ciclos de produção. Em aves alimentadas com 0,58% de Met+Cys digestíveis proporcionaram redução dos escores 2,3 e 4 nos ciclos 4 e 5 de produção em aves alimentadas com DLM (Figura14).

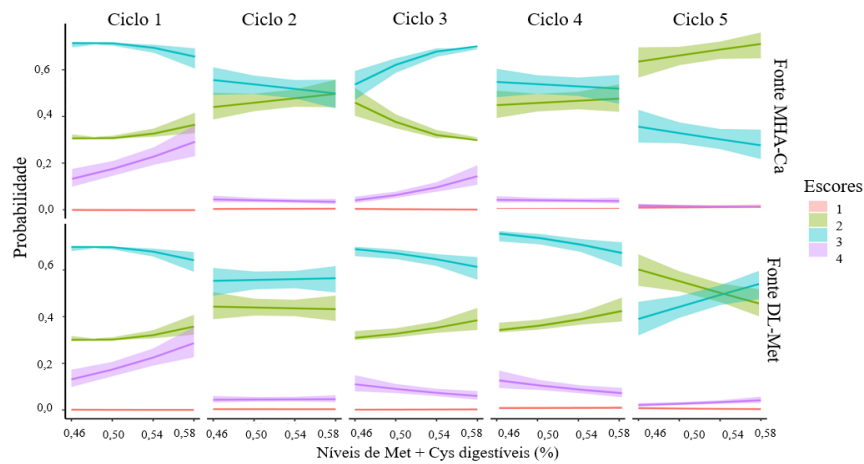


Figura 12- Escore de Asa de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

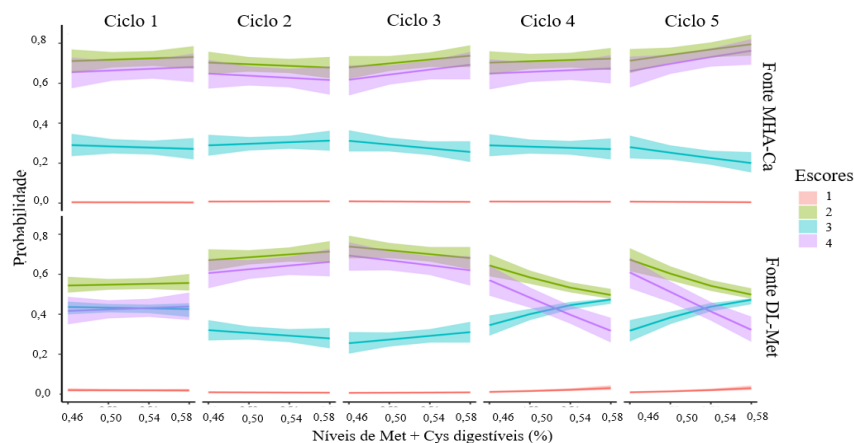


Figura 13- Escore de Cloaca de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

Em ambas as fontes houve probabilidade maior de escore 2 e 3 em todos os ciclos de produção das aves (Figura 15). Aves alimentadas com DLM apresentaram maior frequência de escore 3 aos níveis de Met+Cys. Poedeiras suplementadas na dieta com a fonte MHA-Ca apresentaram redução do escore 2 e aumento do escore 3 em pontuação dos escores de cauda. Na pontuação total, em ambas as fontes houve maior probabilidade pontuações entre 12 e 16 em todos os ciclos de produção (Figura 16).

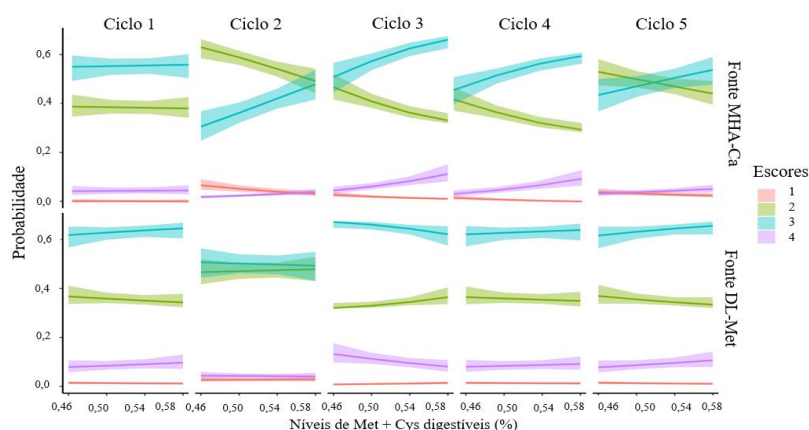


Figura 14- Escore de cauda de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

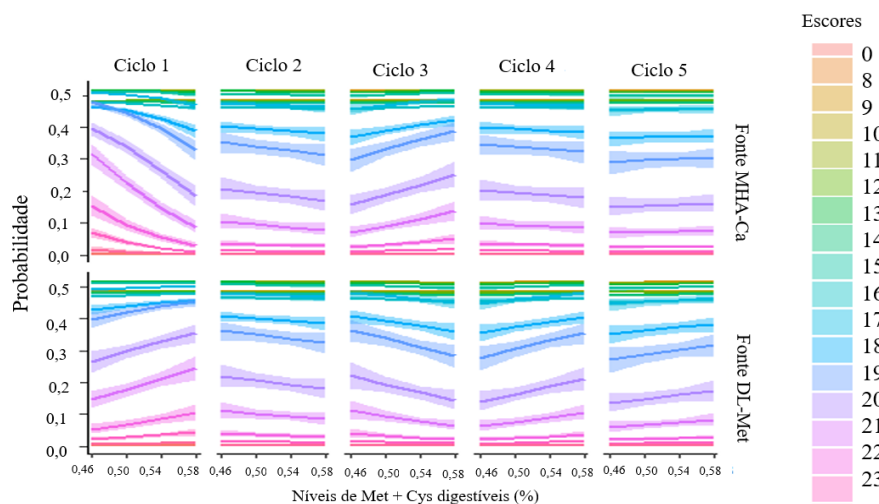


Figura 15- Escore de Rabo de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis

3.4 Análise econômica

Os diferentes custos de ração através do consumo de ração, (CR), o custo por tonelada de ração (CTR), o custo de arraçamento no período (CA), dúzia de ovos (DZO), o custo de arraçamento por dúzia de ovo (CADZ), o custo por caixa de ovos (CCO) e custo por quilograma de ovo (CKO) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DL-Met estão apresentadas nas Tabelas 11. Houve efeito significativo ($P < 0,05$) entre os níveis de metionina para DZO (Tabela 11). O nível de suplementação de 0,58% Met + Cys digestíveis de poedeiras alimentadas com DLM aumentou CR, CTR, CA, CDZO e CADZ em relação a MHA-Ca. Poedeiras alimentadas com MHA-Ca apresentaram

menores custos em CKg e CC. Contudo, apresentaram o maior CDZO. de 0,54% de Met+Cys digestíveis tiveram o menor Ckg e CC em aves alimentadas com DLM.

Tabela 11- Consumo de ração, (CR), o custo por tonelada de ração (CTR), o custo de arração no período (CA), dúzia de ovos (DZO), o custo de arração por dúzia de ovo (CADZ), o custo por caixa de ovos (CCO) e custo por quilograma de ovo (CKO) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DL-Met

Fonte		CR g/ave	CTR R\$	CA R\$	DZO R\$	CADZ R\$	Ckg R\$	CC R\$
MHA-Ca		15,23	1425,42	21,71	10,18	2,13	0,024	0,0205
DLM		15,36	1429,49	21,96	10,20	2,15	0,024	0,0207
Valor de P¹		0,3747	0,1826	0,2541	0,5947	0,4998	0,7177	0,3910
Níveis								
MHA Ca	0,46	15,29	1418,40	21,69	9,93	2,18	0,026	0,021
	0,50	15,17	1423,76	21,60	10,11	2,14	0,024	0,020
	0,54	15,38	1427,76	21,97	10,27	2,14	0,024	0,021
	0,58	15,08	1431,76	21,59	10,41	2,07	0,022	0,020
DLM	0,46	15,22	1426,31	21,71	9,91	2,19	0,026	0,021
	0,50	15,48	1425,16	22,07	10,27	2,15	0,024	0,021
	0,54	15,17	1430,55	21,70	10,26	2,11	0,023	0,020
	0,58	15,58	1435,94	22,37	10,38	2,15	0,024	0,021
Valor de P		0,5892	0,1392	0,4592	0,0144	0,2892	0,1286	0,1571
C.V (%)		1,19	0,23	1,16	0,59	1,50	3,60	1,70

¹ Teste de Tukey a (0,05)

Na tabela 12 estão apresentados os diferentes índices econômicos através do índice de custo médio (ICM), o índice de custo médio por kg de ovo (ICMkg), o índice de custo médio por caixa de ovo (ICMC), a renda bruta média (RBM), a Margem bruta (MB), a margem bruta relativa (MBR), a rentabilidade média (RM) e o índice de rentabilidade média (IRM) de galinhas poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DL-Met. Foi possível observar efeito significativo ($P < 0,05$) entre as fontes para RBM. de 0,54% de Met+Cys digestíveis as aves alimentadas com ambas as fontes tiveram o melhor ICM, entretanto, somente em aves alimentadas com DLM este nível apresentou melhores ICMkg, ICMC, RM e IRM. de 0,58% de metionina proporcionou melhor ICMkg, ICMC, maior RBM, MB, MBR, RM e IRM em aves alimentadas com MHA-Ca.

Tabela 12- Índice de custo médio (ICM), o índice de custo médio por kg de ovo (ICMKg), o índice de custo médio por caixa de ovo (ICMC), a renda bruta média (RBM), a Margem bruta (MB), a margem bruta relativa (MBR), a rentabilidade média (RM) e o índice de rentabilidade média (IRM) de galinhas poedeira leves de 42 a 62 semanas de idade alimentadas com MHA-Ca e DL-Met

Fonte	ICM (%)	ICMKg (%)	ICMC (%)	RBM R\$	MB R\$	MBR (%)	RM (%)	IRM (%)	
MHACa	100,80	108,70	102,85	55,98b	34,27	119,88	157,89	107,45	
DLM	101,09	110,63	103,96	56,13a	34,17	119,51	155,6	105,89	
Valor P ¹	0,1848	0,477	0,244	0,043	0,452	0,773	0,686	0,452	
Níveis									
MHA-Ca	0,46	100,29	118,50	105,65	54,61	32,92	115,13	151,77	103,29
	0,50	100,68	108,79	102,58	55,58	33,98	118,86	157,36	107,09
	0,54	100,97	107,51	103,19	56,51	34,55	120,83	157,27	107,03
	0,58	101,26	100,00	100,00	57,25	35,66	124,73	165,19	112,42
DLM	0,46	100,86	117,65	106,17	54,52	32,81	114,76	151,12	102,84
	0,50	100,78	110,49	104,16	56,46	34,39	120,29	155,86	106,07
	0,54	101,17	106,21	102,27	56,43	34,73	121,47	160,06	108,93
	0,58	101,56	108,18	103,25	57,11	34,75	121,53	155,36	105,72
Valor P	0,1380	0,083	0,086	0,113	0,281	0,057	0,067	0,281	
C.V.(%)	0,23	3,00	1,03	3,51	2,42	1,42	3,93	2,42	

¹ Teste T a (0,05)

4. DISCUSSÃO

A metionina é o primeiro aminoácido limitante para galinhas poedeiras que se alimentam com dietas baseadas em milho e farelo de soja e a suplementação de DLM ou MHA como fontes de metionina é importante para otimizar o desempenho e a saúde das poedeiras. Todavia, é de conhecimento que o grau de deficiência ou desequilíbrio de um aminoácido pode resultar em reações variáveis no organismo da ave. Tanto a deficiência quanto o excesso de metionina podem causar uma redução no desempenho de poedeiras (CARDICI et al., 2014), isso ocorre devido a regulação da ingestão de alimentos, decorrente do desequilíbrio nos aminoácidos absorvidos do trato digestivo, levando a distúrbios metabólicos e assim a alteração da ingestão de ração. Esse efeito também ocorre devido ao custo metabólico de desaminar o excesso daqueles aminoácidos que não podem ser utilizados devido à deficiência ou excesso. Consequentemente, os padrões de aminoácidos livres dos músculos e do plasma tornam-se tão perturbados que um sistema regulador do apetite intervém para reduzir a ingestão de alimento (GOUS; KLYN, 1988; HARMS; RUSSEL, 2003).

Na presente pesquisa esperava-se que o consumo de ração diário diminuísse à medida que a variabilidade do conteúdo de metionina na dieta diária aumentasse. Contudo, o consumo de ração apresentou oscilação, tendendo a ter aumento à medida que se elevou os níveis de metionina na dieta. Resultados semelhantes também foram encontrados por Brumano et al.

(2010) e Carvalho et al. (2018). Todavia, foi observado nesse estudo uma sutil redução da ingestão de ração em aves que foram alimentadas com a fonte de MHA-Ca com o nível de 0,58% de Met+Cys. Este comportamento da redução do consumo de ração no nível mais elevado de metionina também foi visto por Sangali et al. (2015). Relataram que o estímulo ao apetite também pode ocorrer devido a alterações no perfil de aminoácidos plasmáticos em função de alterações nos níveis de aminoácidos totais contendo enxofre na dieta. O que pode causar redução no consumo voluntário se suplementadas com níveis elevados de metionina, assim como ocorreu com a utilização do nível de 0,58% com a MHA-Ca nesta pesquisa. Maiorka et al. (2002) também relatou que a ingestão de níveis elevados de metionina desencadeia o efeito aminostático, e assim reduz a ingestão de ração.

Em relação aos resultados entre as fontes diferirem em função da estreita associação dos níveis circulantes de metionina durante a ingestão voluntária de alimentos, a redução no consumo pelas aves alimentadas somente com MHA-Ca pode estar relacionada as diferenças químicas das fontes, ou seja, o fato da fonte MHA possuir um grupo hidroxila pode influenciar o local de absorção, bem como, o tipo de transporte e metabolização no corpo. Todavia, é de conhecimento que a MHA por ser um ácido orgânico, é lipofílico é assim absorvido principalmente por transportadores de monocarboxilato dependentes de H^+ por difusão (KNIGHT; DIBNER, 1984). Porém, também podem ser absorvidas por meio de mecanismo de transporte de ácido láctico (MARTIN-VENEGAS et al., 2007). Diante disso, esses fatores podem ter resultados em diferença nos padrões de alimentação *ad libitum* entre as aves suplementadas com MHA-Ca. Essas diferenças podem indicar que a suplementação de 65% do valor da DLM em relação a exigência da MHA-Ca na dieta não proporcione a mesma biodisponibilidade de metionina plasmática.

O aumento da ingestão de metionina proporcionou maior PRO, PO, MO e melhor CMO que são variáveis diretamente relacionadas, indicando que este ganho produtivo ocorreu em função desse aumento no consumo de Met+Cys digestíveis. Essa estabilidade também pode ser explicada pela maior disponibilidade dos aminoácidos sulfurados, uma vez que o nível mais elevado desses aminoácidos não proporcionou desbalanço no organismo das aves, nem depreciação no desempenho. Justificando os efeitos sobre a produção, Domingues et al. (2016) afirmaram que a disponibilidade geral de proteínas e aminoácidos essenciais específicos afetam a produção de ovos. Carvalho et al. (2009) mencionam que as aves podem usar parte da proteína e energia disponibilizadas pelo metabolismo da metionina para ganhar peso e produzir ovos mais pesados.

A melhora nos índices de desempenho produtivo observados na presente pesquisa corrobora com os achados por Lima et al. (2015), Souza et al. (2015), Meng et al. (2016), Xião et al. (2016) e Carvalho et al. (2018), quando estudaram o efeito da suplementação da metionina sobre o desempenho de poedeiras leves. A explicação pode ser que a suplementação com metionina tenha aumentado a deposição de proteínas, promovendo assim a maior produção de ovos. Além disso, a melhora no desempenho tenha sido por meio das vias do metabolismo da poliaminas, por apresentar importante papel no crescimento e proliferação celular e na síntese de proteínas e ácidos nucleicos (VÁZQUEZ-AÑÓN et al., 2006). Contudo, em relação aos níveis baixos de suplementação os resultados em nosso estudo sugeriram que a insuficiência dessa ingestão enfatiza a diminuição do desempenho da produção de ovos e das demais variáveis.

A presente pesquisa mostrou que os níveis de metionina na dieta influenciaram os parâmetros de qualidade da gema e albúmen. Estes resultados se aproximam dos encontrados por Brumano et al. (2010), Polese et al. (2012) e Carvalho et al. (2017), o que indica que o aumento da ingestão de metionina pode proporcionar maior peso para os constituintes interno do ovo, possivelmente devido ao maior acúmulo de proteínas e aminoácidos, já que tanto a gema quanto o albúmen que apresentam 16 e 11% de proteínas na sua composição são responsáveis pelo acúmulo destes nutrientes.

Em relação aos resultados para os constituintes do albúmen, sabe-se que mais de 90% dos sólidos do albúmen são proteínas (conalbumina, lisozima, avidina e ovoglobulina, ovomucóide, ovomucina e a ovalbumina) (ROMANOFF; ROMANOFF, 1949), e levando em consideração que aminoácidos essenciais, como a metionina aumentam a síntese de proteínas através da maior expressão de RNA no fígado e no oviduto (HIRAMOTOK; MURAMATSUT e OKUMURA, 1990), pode-se relacionar que este aumento da suplementação da metionina através dessa maior síntese de proteínas possa ter causado maior deposição de proteínas e aminoácidos e assim maior peso e porcentagem de albúmen.

O aumento dos constituintes da gema em relação ao aumento proporcional ao consumo de Met+Cys pelas aves pode ser explicada pelo possível aumento na síntese de gordura no fígado durante o período de postura, e consequentemente devido a maior lipogênese hepática aumentada, que causa aumento na produção de fosfolípidios. Levando em consideração que a metionina é precursora da homocisteína, aminoácido ligado ao metabolismo lipídico por doar o grupo metil para diversos receptores e pela síntese de fosfatidilcolina, necessária para a síntese e secreção de lipoproteínas hepáticas (ANGELA DEVLIN; TIM GREEN, 2009), provavelmente houve maior deposição de gordura na gema, que por sua vez advém da síntese

hepática. Deposição essa que ocorre através via lipoproteína de muito baixa densidade rica em triacilglicerol e vitelogenina de lipoproteína de alta densidade e rica em fosfolipídios (CHERIAN et al., 2008). Dessa forma, com o aumento da ingestão de metionina, e a síntese de gordura no fígado pode ter proporcionado o transporte e armazenamento de triglicerídeos na gema do ovo e assim possibilitando o aumento no peso gema e porcentagem da gema.

As fontes e os níveis de metionina proporcionaram maior porcentagem de casca e melhor gravidade específica dos ovos. Estes achados se aproximam dos encontrados por Carvalho et al. (2017). Do ponto de vista de que a casca do ovo de poedeiras apresenta 96% de carbonato de cálcio inorgânico, e o melhor resultado encontrado com aves alimentadas com MHA-Ca, pode-se inferir que após reações de transaminação e produção de metionina na forma ativa, possivelmente a liberação do cálcio extra por esta fonte, através do intestino para o plasma, e armazenado nos ossos ou transportado diretamente no útero possa ter proporcionado maior síntese de carbonato de cálcio para a casca do ovo e assim causando maior peso e consequentemente maior porcentagem. O aumento na porcentagem de casca pode ser uma resposta à maior síntese de proteínas que fornecem base estrutural para a calcificação deste componente. Alguns estudos identificaram que a composição da membrana da casca do ovo há presença de cisteína, e sendo a cisteína formada a partir da metionina, possa ter ocorrido maior aporte de cisteína, o que por sua vez pode ter refletido numa maior síntese deste aminoácido na formação da membrana da casca (KODALI et al., 2011)

Bunchasak et al. (2012) observaram que as fontes DLM e MHA-Ca proporcionaram as aves um aumento significativo no teor de cálcio na casca do ovo. Brumano et al. (2010) verificaram que mudanças na qualidade da casca podem ser observadas a partir do aumento do tamanho do ovo devido a suplementação de metionina. Além de que um maior peso da casca do ovo pode resultar em cascas menos espessas o que poderia causar uma piora na qualidade dos ovos. Contudo, como a resistência da casca a quebra não apresentaram diferenças na presente pesquisa, sendo assim pode-se indicar que o aumento no peso do ovo não interfere na qualidade da casca.

Houve uma redução linear da gravidade específica ao ponto que se elevou os níveis de Met+Cys digestíveis. Levando em consideração que Hamilton (1982) afirmou que está variável é diretamente influenciada pela espessura da casca, e casca de maior espessura provoca maior gravidade específica do ovo, e diante dos resultados expostos nessa pesquisa, é possível indicar que com o aumento no peso dos componentes do ovo devido a suplementação da Met+Cys, correlacionado com a redução na espessura das cascas, à medida que os níveis foram aumentando proporcionou menor gravidade específicas dos ovos. Todavia, em relação as

fontes, as aves alimentadas com MHA-Ca apresentaram maior gravidade em relação a DL-Met, o que possa estar relacionado ao maior peso da casca de ovo, e assim pela possível razão do Ca extra fornecido pelo análogo.

Os dados neste experimento foram analisados por modelo exponencial o qual forneceu resultados da biodisponibilidade equimolar da MHA-Ca (99, 87, 99, 97, 97,95 e 91% para peso de ovo, produção de ovo, porcentagem de gema, peso de albúmen, peso de gema, peso de casca e gravidade específica). Com base no intervalo de confiança de 95%, a biodisponibilidade da MHA-Ca não mostrou ser significativamente menor que 41% ou maior que 100% em base molar. Na literatura há indícios de que a MHA-AL são absorvidas com menor eficiência. E existem fatores que influenciam nos resultados desta bioeficácia, como a idade das aves, absorção e conversão das fontes, a microbiota intestinal e condições de conforto térmico (HAN et al., 1990; LIU et al., 2004).

De forma geral, foi observado na presente pesquisa que em níveis menores (0,46 e 0,50%) de metionina em aves alimentadas com a fonte DLM apresenta maior biodisponibilidade, proporcionando maior peso do ovo e maior gravidade específica, enquanto em níveis maiores (0,58% de Met+Cys) em aves alimentadas com MHA-Ca tem maior porcentagem de gema e peso de casca. Este comportamento confirma que as fontes apresentam diferenças não somente na estrutura química, mas também na biodisponibilidade no organismo. Quanto aos resultados da DLM superiores em níveis baixos podem ser justificados pelo fato de que nesta situação a MHA ser canalizada para gerar mais cistina e taurina que a DLM (MARTIN-VENEGAS et al., 2006), tornando a distribuição de metionina para os outros órgãos limitada, podendo assim afetar o desempenho do animal. Sendo, assim a MHA-Ca apresenta a menor biodisponibilidade nesta situação.

Em contraponto, em níveis elevados, a MHA-Ca superou a DLM, tal fato, pode ser atribuído a forma de transporte. Já que a DLM é transportada de forma ativa dependente de Na^+ (MARTIN-VENEGAS et al., 2006), pode gerar uma concorrência com outros aminoácidos essenciais pelo mesmo sítio de absorção e assim gerar uma limitação na absorção, como sugerido por (LI et al., 2014). Enquanto a MHA-Ca a captação é feita principalmente por difusão, todavia também podem ser absorvidas por transportador de ácido láctico, o monocarboxilato (MAENZ; ENGELE-SCHAAN, 1996a) possa ter proporcionado maior disponibilidade de metionina no organismo em relação a DLM formulada em 65%.

Foi possível observar que a suplementação de Met+Cys digestíveis aumentou a pontuação do escore de plumagem nas poedeiras, principalmente do dorso, indicando que a deficiência de metionina prejudica o crescimento de penas. É sabido que a metionina é

necessária para a síntese da queratina, principal componente presente nas penas, sendo assim a suplementação de aminoácido contendo enxofre pode melhorar a condição de cobertura de penas, proporcionando melhor bem-estar as aves.

Do ponto de vista da análise econômica, foi possível observar que o nível elevado de Met+Cys digestíveis causou maior consumo de ração em aves alimentadas com DLM em relação a MHA-Ca. Em consequência, houve um maior custo por tonelada de ração e com arraçamento para DLM. Fixando o preço da ração em R\$ 1.435,94 ton. (a partir do preço obtido no máximo consumo). Economicamente, a partir da inclusão dos níveis de Met+Cys digestíveis houve uma diferença de R\$ 4,15 por quilo de ração entre as fontes.

Quanto aos índices de custos médios, mesmo com preços mais altos (considerando a alta do dólar), dietas com menor concentração de Met+Cys apresentaram custos relativamente maiores, tal como maiores índices de custo média. Foi possível também verificar que as fontes apresentaram desempenhos diferentes em função do aumento dos níveis. Aves alimentadas com DLM apresentaram pior índice de custo médio por quilo grama e índices de custo médio por caixa de ovo, indicando, assim um agravamento da viabilidade econômica da atividade em função do maior teor de enxofre na dieta, em comparação a MHA-Ca. Resposta semelhante foi encontrada por Carvalho et al. (2018) que estudando a análise econômica dos níveis de metionina na dieta de poedeiras leves observaram que níveis de 0,581 % proporcionaram o menor índice de custo médio quando o dólar foi cotado em R\$ 3,00.

As aves alimentadas com MHA-Ca apresentaram os melhores índices de rentabilidade e margens, a maior inclusão dietética de metionina apresentou um maior retorno obtido com cada real gasto por quilograma de ração consumida pelas aves quando alimentadas com maior nível de Met+Cys digestíveis, demonstrando que a melhor resposta em função da produção de ovos ocorreu em aves alimentadas com esta fonte. A maior rentabilidade (6,70%) observada em aves que receberam MHA-Ca em comparação a DLM indica que as aves que apresentaram maiores índices produtivos também apresentam melhor retorno econômico quando alimentadas com níveis elevados de metionina. Dessa forma, pode-se afirmar que os níveis crescentes de metionina mesmo apresentando maior consumo, pode proporcionar melhor retorno do capital e assim favorecer melhor lucratividade.

Independente da fonte de metionina utilizada o nível de suplementação de 0,58% de metionina + cistina digestíveis promoveu melhorias nos índices produtivos, na qualidade interna e externa do ovo, como também, melhorou o índice de cobertura de penas em poedeiras na fase de produção.

A fonte MHA-Ca mostrou-se mais economicamente viável em relação a fonte DLM com base nos parâmetros econômicos avaliados. Portanto, recomendamos a utilização da fonte MHA-Ca com nível de suplementação de 0,58%.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMINODAT® 5.0. **Animal nutritionist's information edge**. Essen: Evonik Nutrition and Care GmbH; 2016.

ANGELA, D.; TIM, G, Mechanisms of altered fatty acid and phospholipid levels in hyperhomocysteinemia, **Journal of Clinical Lipidology**. Columbia, v. 4, n. 2, 159–166, 2009.

BARBOSA, H. P., FIALHO, E. T.; FERREIRA, A. S.; G. LIMA, J. M. M. DE.; GOMES, M. F. M. Triguilho para suínos nas fases inicial de crescimento, crescimento e terminação. **Revista Soc. Brasileira Zootecnia**. Minas Gerais, v. 21, p. 827–837. 1992.

BRUMANO, G.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L.; ROSTAGNO, H. S.; ROCHA, T. C.; LPMEIDA, R. L. DE. Níveis de metionina+ cistina digestível em rações para poedeiras leves no período de 24 a 40 semanas de idade. **Revista Brasileira Zootecnia**. Minas Gerais, v. 39, n. 6, p. 1228–1236, 2010.

BUNCHASAK, C.; RATCHADAPORNVANITCH, A.; THIENGTHAM, A.J. Comparative Effects of Supplemental DL-2-hydroxy-4-[methylthio] Butanoic Acid and DL-methionine in Diet on Egg Production and Quality in Laying Hens. **Journal Poultry Science**. Bangkok, v. 49, n. 4, p. 260-267, 2012.

CARD, L. E.; NESHEIM, M. C. **Poultry production**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1966. 399 p.

CARVALHO, D. C. O.; ALBINO, L. F. T.; ROSTAGNO, H. S.; PINHEIRO, S. R. F.; BRITO, C. O. B.; VIANA, M. T. S. Biodisponibilidade de fontes de metionina para poedeiras leves na fase de produção mantidas em ambiente de alta temperatura. **Revista Brasileira Zootecnia**. Minas Gerais, v. 38, n. 12, p. 2383-2388, 2009.

CARVALHO, T. S. M.; SOUSA, L. S.; NOGUEIRA, F. A.; VAZ, D. P.; SALDANHA, M. M.; TRIGINELLI, M. V.; PINTO, M. F. V. S.; BAIÃO, N. C. and Lara, L. J. C. Digestible methionine+cysteine in the diet of commercial layers and its influence on the performance, quality, and amino acid profile of eggs and economic evaluation. **Poultry Science**. Minas Gerais, v. 97, n. 6, p. 2044–2052, 2018.

CHERIAN Gita. **Omega-3 fatty acids: Studies in avians**. In Meester F, D.; Watson R. R, editors. Wild-Type Food in Health Promotion and Disease Prevention. New Jersey, editora Humana Press, 2008. 169–178 p.

DIBNER, J. J. Utilization of supplemental methionine sources by primary cultures of chick hepatocytes. **Journal of Nutrition**. Missouri, v. 113, n. 10, p. 2216-2223, 1983.

FIGUEIREDO, A. C. S.; SOARES, P. R.; ALBINO, L. F. T.; GRAÇAS, A. S.; GOMES, P. C. Desempenho, rendimento de carcaça e avaliação econômica de diferentes programas de restrição alimentar em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Minas Gerais, v. 27, n. 3, p. 564-571, 1998.

HAMILTON, R. M. G. Methods and factors that affect the measurement of egg shell quality. **Poultry Science**. Ontario, v.61, n. 1, p. 2022-2039, 1982

HARMS, R.H.; RUSSEL, G.B. Performance of commercial laying hens fed diets with various levels of methionine. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p.449-455, 2003.

HIRAMOTO, K.; MURAMATSU, T.; OKUMURA, J.; Effect of Methionine and Lysine Deficiencies on Protein Synthesis in the Liver and Oviduct and in the Whole Body of Laying Hens. **Poultry Science**. Nogaya, v. 69, n. 1, p. 84-89, 1990.

KODALI, V. K.; GANNON, S. A.; PARAMASIVAM, S.; RAJE, S.; POLENOVA, T.; THORPE, C. A Novel Disulfide-Rich Protein Motif from Avian Eggshell Membranes. **PLosone**, Delaware, v. 6, n. 3, p. 2011.

LI, G. W; BURKHARDT, D; GROSS, C; WEISSMAN, J.S. Quantifying absolute protein synthesis rates reveals principles underlying allocation of cellular resources. **Cell**. California, v. 157, n. 3, p. 624-635, 2014.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; LEWIS, A. J.; AMMERMAN, C. B. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal Animal Science**. Florida, v. 75, n. 10, p. 2672–2683, 1997.

LIU, Z.; BATEMAN, A.; BRYANT, M.; ABEBE, A.; ROLAND, D. Estimation of bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue relative to DL-methionine in layers with exponential and slope-ratio models. **Poultry Science**. Alabama, v. 83, n. 9, p. 1580–1586, 2004.

MAENZ, D. D.; ENGELE-SCHAAN, C. M. Methionine and 2-hydroxy-4- methyltiobutoanic acid are partially converted to nonabsorbed compounds during passage through the small intestine and heat exposure does not affect small intestinal absorption of methionine sources in broiler chicks. **Journal of Nutrition, Rockville**. Saskatchewan, v. 126, v. 7, p. 1438–1444, 1996.

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. **Desenvolvimento e Reparo da Mucosa Intestinal In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte, Jaboticabal, 2 ed. FUNEP/UNESP, 2002. 113-123 p.**

MARTÍN-VENEGAS, R.; GERAERT, P.A.; FERRER, R. Conversion of the methionine hydroxy analogue DL-2- hydroxy-(4-methylthio) butanoic acid to sulfur-containing amino acids in the chicken small intestine. **Poultry Science**, Barcelona, v. 85, n. 1, p. 1932–1938, 2006.

MENG, G. H.; SONG, D.; LI, L. B.; YANG, C. J.; QU, Z. X.; GAO, Y. P Dietary methionine requirement of Jing Brown layer hens from 9 to 17 weeks of age. **Journal Animal Physiologic Animal Nutrition**. Shaanxi, v. 101, n. 5, p. 925-935, 2016.

ROMANOFF, A. L.; ROMANOFF, A. J. **The Avian Egg**. New York, Editora: John Wiley e Sons Inc, 1949. 918 p.

ROMBOLA, L. G.; FARIA, D. E.; DEPONTI, B. J.; SILVA, F. H. A.; FILHO, D. E. F.; JUNQUEIRA, O. M. Fontes de metionina em rações formuladas com base em aminoácidos totais ou digestíveis para frangas de reposição leves e semipesadas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, São Paulo. v. 37, n. 11, p. 1990-1995, 2008.

SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P.; FERNANDES, J. B. K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal, 1 ed. Funep, 2014, 186-217, p.

SANGALI, C. P.; BRUNO, L. D. G.; NUNES, R. V.; NETO, A. R. DE. O.; POZZA, P. C.; HENZ, J. R.; BERWANGER, E. Bioavailability of different methionine sources for broilers from 1 to 21 days old. **Ciencia e Investigación Agraria**, Paraná, v. 42, n. 1, p. 35-43, 2015.

SOUZA, R.; LIMA, M. C.; SOUSA, N. A. P.; SILVA, J. H. V.; MELO, T. S.; JORDAO FILHO, J.; LIMA, F. B. S.; SILVA, A. N. Biodisponibilidade da Metionina Hidróxi Análoga relativa à DL-Metionina para galinhas poedeiras. In: 52a Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2015, Belo Horizonte. **Anais**. Zootecnia: Otimizando Recursos e Potencialidades, 2015.

TAUSON, R.; KJAER J; MARIA G A; CEPERO R; HOLM, K. Applied scoring of integument and health in laying hens. Applied Scoring of Integument and Health in Laying Hens. **Animal Science Papers and Reports**. Uppsala, v. 23, n. 1, p. 153-159, 2006.

VAZQUEZ-ANON, M.; GONZALEZ-ESQUERRA, R.; SALEH, E. Evidence for 2-Hydroxy-4(Methylthio) Butanoic Acid andDL-MethionineHaving Different Dose Responses in Growing Broiler. **Poultry Science**, Columbia, v. 85, n. 8, p. 1409-1420, 2006.

XIAO X, WANG Y, LIU W, JU T, ZHAN X Effects of different methionine sources on production and reproduction performance, egg quality and serum biochemical indices of broiler breeders. **Asiático-Australas Journal Animal Science**. Zhejiang, v. 30, n. 6, p. 828-833, 2017.

CAPÍTULO 3

Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo em comparação a DL-metionina em dietas de poedeiras leves na fase de produção sobre a histomorfometria do intestino e do aparelho reprodutivo

Bioeficácia relativa da metionina hidroxí análogo em comparação a DL-metionina em dietas de poedeiras leves na fase de produção sobre a histomorfometria do intestino e do aparelho reprodutivo

RESUMO: O objetivo deste estudo foi determinar a bioeficácia relativa das fontes de MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de Met + Cys digestíveis em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade sobre a histomorfometria do aparelho digestivo e reprodutivo, glicogênio e esteatose hepático das aves. Um total de 1080 poedeiras Hy-line W80 foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, 2 x 4 + 1 (2 fontes de metionina, MHA-Ca e DLM; 4 níveis de suplementação de Met+Cys para cada fonte: 0,46, 0,54, 0,56 e 0,58% e 1 tratamento isento de suplementação de metionina) com 12 repetições e 10 aves por repetição. Na 62ª semana oito aves por tratamento foram abatidas por eletronarcose e coletados: segmentos do intestino delgado, fígado, útero e magno para análises histológicas. Houve efeito na interação entre as para o duodeno e No nível de 0,46% a DLM apresentou maior LV (largura de vilo), ASV (área de superfície de vilo) e V:C (relação vilo:cripta), como maior ALV (altura de vilo) e maior CC (número de células caliciformes) nos efeitos isolados. No jejuno a fonte de DLM também apresentou maior ALV, ASV e V:C. Aos níveis de suplementação houve efeito linear sobre as variáveis de ALV, ASV e PC (profundidade de cripta). No íleo somente a DLM também apresentou a maior LV, os níveis também apresentaram comportamento linear para LV e ASV. A bioeficácia relativa da MHA-Ca em comparação a DLM foi de 99, 78% na LV e ASV para o duodeno, 83 e 79% na ASV e V:C do jejuno, 79% na ALV para o íleo. Somente em aves alimentadas com DLM houve maior probabilidade no acúmulo de GE (glicogênio hepático) pouca positividade. As fontes tiveram maior probabilidade positividade intensa. Na esteatose houve a redução da probabilidade dos esteatose moderada e baixa probabilidade de esteatose avançada. No magno a DLM apresentou maior EPM (espessura do epitélio do magno) No nível de 0,58%. Houve efeito isolado entre as fontes para variáveis ADU (altura de dobra uterínica), LDU (largura de dobra uterínica) e LPM (altura de perímetro de magno). Os níveis tiveram influência sobre ADU, LDU, LPM com efeito linear. A bioeficácia foi de 70, 131 e 76% na ADU, APM e EPM. Pode-se concluir que a suplementação de metionina independente da fonte utilizada é benéfica ao desenvolvimento da mucosa intestinal, parâmetros do útero e magno, maior estocagem de glicogênio hepático e menor incidência de esteatose hepática, com o nível de 0,58% de suplementação o que apresentou os melhores resultados. Diante da bioeficácia relativa pode-se concluir que as aves alimentadas com DLM apresentam maior biodisponibilidade em níveis menores de Met+Cys em relação a MHA-Ca. Contudo, foi ao nível de 0,58% com a DLM que houve os melhores resultados avaliados.

Palavras-chave: glicogênio hepático; dobra uterínica; esteatose; MHA-Ca.

Relative bioeffectiveness of hydroxy-methionine analog compared to DL-methionine in light laying hens in the production phase on the histomorphometry of the intestine and the reproductive tract

ABSTRACT Feeding with methionine sources leads to changes in intestinal morphology by stimulating cell proliferation in the intestinal epithelium and by improving integrity. The aim of this study was to determine the relative bioeffectiveness of sources of MHA-Ca (hydroxy-methionine-calcium-salt analog) compared to DLM (DL-methionine) at the levels of digestible Met + Cys in light-laying diets from 42 to 62 weeks of age on histomorphometry of the digestive and reproductive system, glycogen and hepatic steatosis of birds. A total of 1080 Hy-line W80 layers were distributed in a completely randomized design in a factorial scheme, 2 x 4 + 1 (2 sources of methionine, MHA-Ca and DLM; 4 levels of Met + Cys supplementation for each source: 0.46, 0.54, 0.56 and 0.58% and 1 treatment without methionine supplementation) with 12 repetitions and 10 birds per repetition. In the 62nd week, eight birds per treatment were slaughtered by electronarcosis and collected: segments of the small intestine, liver, uterus and magnum for histological analysis. There was an effect on the interaction between the duodenum and at the level of 0.46%, the DLM presented a greater LV (villus width), ASV (villus surface area) and V: C (villus: crypt ratio), as the highest ALV (villus height) and higher CC (number of goblet cells) in the isolated effects. In the jejunum, the DLM source also showed higher ALV, ASV and V: C. At supplementation levels, there was a linear effect on the variables of ALV, ASV and CP (crypt depth). In the ileum, only the DLM also had the highest LV, the levels also showed a linear behavior for LV and ASV. The relative bioeffectiveness of MHA-Ca compared to DLM was 99, 78% in LV and ASV for the duodenum, 83 and 79% in ASV and V: C of the jejunum, 79% in ALV for the ileum. Only in birds fed with DLM there was a greater probability of accumulation of GE (hepatic glycogen) with little positivity. The sources were more likely to have intense positivity. In steatosis there was a reduction in the likelihood of moderate steatosis and a low probability of advanced steatosis. On magnesium, DLM presented a greater EPM (magnum epithelium thickness) at the level of 0.58%. There was an isolated effect between the sources for variables ADU (uterine fold height), LDU (uterine fold width) and LPM (magnitude perimeter height). The levels had an influence on ADU, LDU, LPM with linear effect. Bioeffectiveness was 70, 131 and 76% in ADU, APM and EPM. It can be concluded that supplementation of methionine regardless of the source used is beneficial to the development of the intestinal mucosa, parameters of the uterus and magnum, greater storage of hepatic glycogen and less incidence of hepatic steatosis, with the level of 0.58% of supplementation that presented the best results. Given the relative bioeffectiveness, it can be concluded that birds fed with DLM have higher bioavailability at lower levels of Met + Cys compared to MHA-Ca. However, it was at the level of 0.58% with the DLM that the best results were evaluated.

Keywords: hepatic glycogen; uterine fold; steatosis; MHA-Ca.

1. INTRODUÇÃO

A metionina (Met) é o primeiro aminoácido essencial limitante para poedeiras que consomem dieta formulada com milho e farelo de soja e é conhecido por afetar diretamente a produção das aves. Sua função no metabolismo desempenha papéis críticos nas reações de metilação, aumento da síntese da proteína, promoção de desempenho e crescimento, aumento da resposta imune e na regulação da divisão celular.

O uso de fontes de Met leva a mudanças na morfologia intestinal por meio do estímulo da proliferação celular, através da produção de poliaminas que são cruciais para o crescimento celular do epitélio intestinal (TIMMONS; CHANG; WANG; RAO, 2014); e por melhorar a integridade epitelial, através da redução do estresse oxidativo, por meio dos derivados como a taurina e a glutatona, que proporcionam a eliminação de espécies reativas de oxigênio e, assim protegem o epitélio intestinal do dano oxidativo (BIN; HUANG; ZHOU, 2017). A participação da Met na síntese da glutatona além de proteger as células ajuda a prevenir a peroxidação lipídica e, possivelmente, aterosclerose e colesterol elevado. Sendo assim, uma deficiência presente pode causar prejuízos hepáticos, já que reações da metilação são imprescindíveis no metabolismo da gordura no fígado, o que evita a síndrome do fígado gorduroso (SANTANA et al., 2014).

As fontes deste aminoácido encontradas em escala industrial hoje no mercado são: o ácido DL-2- amino-4 (metiltio) butanóico (DLM) é a mais utilizada na alimentação devido à alta concentração de Met. Todavia, o surgimento dos DL-2- hidroxí-4 (metilo) butanóico (MHA) tornou-se uma alternativa por disponibilizar metionina quando transaminada. Dibner (1983) observou que ambas as fontes são bioquimicamente equivalentes como fontes de Met para a síntese de proteínas no fígado. Xie et al., 2007 afirmaram que o uso dos análogos apresentam uma maior redução na excreção de nitrogênio e apresenta menor toxicidade. Contudo, ainda há muitas controvérsias em torno da bioeficácia desses análogos, como também uma lacuna quanto ao uso do análogo sal de cálcio (MHA-Ca) sobre os parâmetros histomorfométricos em poedeiras leves. Dessa forma, objetivou-se com esta pesquisa determinar a bioeficácia relativa da MHA-Ca em comparação a DLM aos níveis de Met + Cys digestíveis em dietas de poedeiras leves de 42 a 62 semanas de idade sobre a histomorfometria do aparelho digestivo e reprodutivo, glicogênio e esteatose hepático das aves.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2. 1 Desenho experimental, instalações e dietas

O experimento foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba, e aprovado com número de protocolo nº4161290819. A pesquisa foi desenvolvida no Módulo de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, localizado no município de Areia – PB, Brasil. As condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar foram registrados diariamente durante todo experimento com temperatura média máxima: 27,96°C (30,00°C, maior temperatura encontrada dentro os valores médios), temperatura média mínima: 19,9°C (18,78°C, menor temperatura encontrada dentro os valores médios) e umidade relativa do ar: 73,88% (69,98% menor umidade encontrada dentro os valores médios).

Foram utilizadas 1080 galinhas poedeiras da linhagem Hy-line W80, entre 42 a 62 semanas de idade, com peso inicial médio de $1,613 \pm 0,04$ kg/ave, totalizando 20 semanas de experimento, divididos em nove tratamentos com 12 repetições e 10 aves por repetição. As aves foram distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4+1 (duas fontes: MHA-Ca e DLM, quatro níveis para cada fonte: 0,46, 0,50, 0,54 e 0,58% e um tratamento isento de suplementação de metionina) (Tabela 13).

Tabela 13- Desenho experimental

Tratamentos	Fonte de metionina	Adição da fonte de metionina (% do produto)	Met+Cys (% da dieta)
1	Controle negativo ¹	-	0,40
2	Basal + MHA-Ca	0,05	0,46
3	Basal + MHA-Ca	0,10	0,50
4	Basal + MHA-Ca	0,15	0,54
5	Basal + MHA-Ca	0,20	0,58
6	Basal + DLM65	0,03	0,46
7	Basal + DLM65	0,07	0,50
8	Basal + DLM65	0,10	0,54
9	Basal + DLM65	0,13	0,58

¹Dieta isenta de suplementação de metionina. Hidroxi-análogo de metionina (84%). DLM foi suplementada a 65% da MHA-Ca

As aves foram alojadas em galpão convencional de postura, coberto com telhas de barro, com comedouros tipo calha e bebedouros tipo nipple, agrupadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 33 cm x 40 cm x 45 cm recebendo água e ração à vontade. O programa de luz adotado foi recomendado pelo manual de criação Hy-line W80 – 2016, com 17 de horas luz diária durante todo período experimental. As rações fareladas a base de milho e farelo de soja foram formuladas para atender as exigências nutricionais de acordo com o

manual de criação (HY-LINE W80, 2016) exceto para os aminoácidos. Os níveis de metionina foram suplementados através de uma dieta basal com deficiência de Met+Cys digestíveis (com redução de 0,50% ou 500 mg/ave/dia). Todas as dietas foram formuladas com base em aminoácidos digestíveis ileal, preconizadas por (AMINODAT® 5.0 2016) (Tabela 14).

Tabela 14- Composição das dietas basais experimentais por 42 a 52 semanas e por 53 a 62 semana

Ingredientes	42^a a 52^a semanas	53^a a 62^a semanas
Milho, 7,88%	668.90	675.67
Farelo de soja, 45,22%	198.57	188.74
Calcário calcítico, 37%	9.53	9.49
Óleo de soja	94.98	100.22
Fosfato bicálcico, 19%	18.74	16.72
Sal comum	3.85	3.85
L-Lisina (Biolys)®	0,159	0,159
L-Treonina	1.70	1.59
L-Triptofano (TrypAmino)®	0.18	0.11
Cloreto de colina, 60%	0.01	0.07
Premix Vitaminico ¹	0.75	0.75
Premix Minneral ²	0.70	0.70
Antioxidante ³	0.10	0.10
Inerte	2.00	2.00
Composição calculada de nutrientes		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2800	2800
Proteína Bruta, %	14,30	13,40
Lisina digestível, %	0,80	0,73
Metionina, digestível, %	0,20	0,19
Metionina + cistina, digestíveis, %	0,40	0,39
Treonina, digestível, %	0,56	0,51
Triptofano, digestível, %	0,17	0,15
Arginina, digestível, %	0,83	0,57
Isoleucina, digestível, %	0,62	0,52
Leucina, digestível, %	1,21	1,15
Valina, digestível, %	0,70	0,64
Cálcio, %	4,08	4,07
Fósforo disponível, %	0,50	0,44
Sódio, %	0,17	0,17
Cloro, %	0,21	0,18
Potássio, %	0,54	0,50
Ácido linoleico, %	1,89	1,64

¹Pré-mistura de vitaminas por quilograma de ração: vitamina A: 15 000 000 UI; vitamina D3: 1.500.000 UI; vitamina E: 15 000 UI; vitamina B1: 2,0 g; vitamina B2: 4,0 g; vitamina B6: 3,0 g; vitamina B12: 0,015 g; ácido nicotínico: 25 g; ácido pantotênico: 10 g; vitamina K3: 3,0 g; ácido fólico: 1,0 g.

²Pré-mistura mínima por quilograma de alimento: Mn: 60 g; Fe: 80 g; Zn: 50 g; Cu: 10 g; Co: 2 g; I: 1 g, selênio: 250 mg. ³Quantum Blue 5000.

2.2 Variáveis Analisadas:

2.2.1 Morfometria intestinal

Na 62ª semana de idade, uma ave por parcela foi selecionada a partir do peso médio (n=8/tratamento) eutanasiadas (insensibilizadas por eletronarcose, seguido de sangria, conforme a Instrução Normativa Nº 3, de 17 de janeiro de 2000 e Portaria Nº 210, de 10 de novembro de 1998 do MAPA). Procedeu-se à coleta do 1 cm do fragmento fechado da porção média do duodeno, jejuno e íleo de cada ave, os quais foram fixados por imersão em formol a 10% e posteriormente submetidos a rotina histológica para a confecção dos blocos de parafina (RAMOS et al., 2011). Os blocos foram seccionados em cortes semi-seriados a cinco micrômetros de espessura (8 / amostra) por meio de um micrótomo rotativo do tipo Minolta da LEICA®, EUA para a confecção de lâminas, coradas em Ácido Periódico de Schiff' (PAS). Com o auxílio de câmera acoplada em microscópio óptico Olympus BX-53 e de um programa analisador de imagens (MOTIC IMAGE PLUS 2.0), foram capturadas quatro fotomicrografias por lâmina. Foram realizadas dezesseis mensurações de largura e altura da vilosidade intestinal e sua respectiva cripta, de cada animal, perfazendo um número amostral de 128 mensurações por tratamento (8 animais x 16 mensurações) para cada variável supracitada.

A largura de vilo (LV, μm) foi determinada a partir das extremidades de um enterócito até ao lado oposto, considerando a média do ápice, região medial e base. A altura de vilo (AV, μm) foi tomada a partir da região da mucosa intestinal que coincidia com a porção superior das criptas, até seu ápice. A profundidade de cripta (PC, μm) foi medida considerando a distância entre a sua base até a região de transição cripta-vilosidade. A relação vilo:cripta (V:C) foi determinada pela relação da altura do vilo pela profundidade da cripta. A área de superfície de vilosidade (ASV, cm) foi calculada usando a fórmula: $[(2 \pi \times (\text{largura da vilosidade} / 2) \times (\text{altura da vilosidade})]$ (SAKAMOTO et al., 2000). Foi quantificado o número de células caliciformes (CC) presentes em uma área de 2000 μm lineares de epitélio intestinal.

2.2.2 Glicogênio e esteatose hepática

Para a mensuração de estoque de glicogênio hepático e esteatose hepática, procedeu-se à coleta de um fragmento de 0,5 cm^3 e após o processamento histológico já mencionado e coloração de PAS, 5 fotomicrografias de 8 animais de cada tratamento, escolhidos aleatoriamente foram analisadas à microscopia óptica pelo mesmo histologista, sem o prévio conhecimento deste sobre o grupo pertencente de cada ave, totalizando um número amostral de 40 por tratamento (8 animais x 5 fotomicrografias). Para o glicogênio hepático foram classificadas de acordo com o grau de depósito de glicogênio em virtude da positividade à

histoquímica de PAS: Grau +: pouco depósito de glicogênio hepático; Grau ++: moderado depósito de glicogênio hepático; e Grau +++: acentuado depósito de glicogênio hepático. Para análise do índice de depósito de glicogênio hepático, as cruzes foram transformadas em números correspondentes (+ = 1, ++ = 2, +++ = 3). Para a esteatose hepática foi considerado a quantidade e o tamanho dos vacúolos citoplasmáticos lipídicos dos hepatócitos, sendo: 0 (ausência de esteatose), 1 (pouca esteatose), 2 (esteatose moderada) e 3 (esteatose avançada), para a realização da estatística, foi adotado a metodologia de Escore Semi quantitativo de Ishak et al., (1995) modificado.

2.2.4 Morfometria do magno e útero

Para morfometria de magno e útero procedeu-se à coleta de um fragmento de 1 cm³ da região média e mais espessa do magno e do útero por animal, perfazendo 8 fragmentos por tratamento. As lâminas histológicas também foram coradas com a coloração de PAS. Para magno foram avaliadas altura de prega (APM, µm), largura de prega (LPM, µm) perímetro de prega (PPM, µm) e espessura do epitélio (EPM, µm). Para a avaliação morfométrica das dobras uterinas foram mensuradas: largura (porção média da dobra) de dobra uterínica (LDU, µm), altura da dobra uterínica (ADU, µm) e o perímetro de dobra uterínica (PDU, µm). Foram realizadas 16 mensurações de cada variável por animal. perfazendo um número amostral de 128 mensurações por tratamento (8 animais x 16 mensurações) para cada variável supracitada.

2.3 Análise estatística

Foi utilizado o software SAS (SAS INSTITUTE, 2011) para as análises estatísticas das variáveis de morfometria do aparelho digestivo (duodeno, jejuno e íleo) e reprodutor das poedeiras (magno e útero). Realizou-se análise de variância com teste de T para as fontes e utilizou-se análise de regressão a 5% de probabilidade para os níveis de Met+Cys digestíveis, e contrastes ortogonais entre os tratamentos. Quando significativo as equações foram demonstradas, e em ajuste de regressão quadrática derivou-se as equações estimando-se os valores de máxima e mínima dos níveis de suplementação de metionina.

Foi utilizado o software estatístico R versão 3.5.1 para a análise de score de glicogênio hepático, de esteatose hepática e dobras do útero. Para tanto procedeu-se com a análise

multivariada de regressão logística ordinal pelo procedimento logit cumulativo para estimar as probabilidades relativas dos escores adotados nas variáveis dentro dos níveis de suplementação de metionina nas dietas pela distribuição multinomial dos dados. As técnicas de regressão ordinal modelam as probabilidades cumulativas de que uma dada resposta (Y) se situa dentro ou abaixo de uma dada categoria (j) para todos os valores possíveis de j (AGRESTI, 1996). Quando significativo gerou-se gráficos para demonstrar o comportamento dos dados. Um modelo exponencial linear foi usado para estimar a bioeficácia do MHA-Ca em relação a DLM. O procedimento geral de modelos lineares (PROC GLM) no software R versão 3.5.1 foi aplicado, ajustando a seguinte equação não linear: $y = a + b \times (1 - e^{-(c_1x_1 + c_2x_2)})$ onde y = resposta (ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de carne de peito), a = interceptar (desempenho mínimo), b = resposta assintótica, a + b = assíntota comum (nível de desempenho máximo), c1 = coeficiente de inclinação para DLM, c2 = coeficiente de inclinação para MHA-Ca, e x1 e x2, = nível das fontes, respectivamente, de acordo com Littell et al. (1997).

3 RESULTADOS

3.1 Morfometria do duodeno

A Tabela 15 apresenta os resultados da morfometria da mucosa intestinal (duodeno) em valores médios da largura de vilo (LV), altura de vilo (ALV), área de superfície de vilo (ASV), profundidade de cripta (PC), relação vilo: cripta (V:C) e número de células caliciformes (CC) de poedeiras leves suplementadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis. Houve interação fonte e nível para largura de vilo LV, ASV, e V:C. No nível de 0,46% de suplementação as aves que receberam DLM apresentaram maior LV, ASV e V:C comparadas as que receberam MHA-Ca. A fonte DLM também foi superior na V:C aos níveis de 0,50 e 0,58%. Ao avaliarmos o os níveis, as aves suplementadas com MHA-Ca apresentaram resposta linear ao aumento da suplementação para as variáveis LV e ASV (Tabela 16).

Tabela 15- Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo (LV), a altura de vilo (ALV), a área de superfície de vilo (ASV), a profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), e células caliciformes (CC) de galinhas poedeiras aos 62 dias de idade.

Fontes	Variáveis					
	LV (μm)	ALV (μm)	ASV (cm)	PC (μm)	V:C (μm)	CC
MHA-Ca	220,27	1378,72b	0,94	165,76	8,40	92,12b
DLM	214,97	1588,81a	1,07	164,10	9,77	98,93a
Valor de P^1	0,5319	<,0001	0,0260	0,7493	<,0001	<,0001
Níveis (%)						
0,46	190,39	1398,87	0,84	156,14	8,98	79,87
0,50	217,74	1461,86	0,99	162,60	9,07	94,93
0,54	227,94	1511,83	1,07	169,65	9,06	102,18
0,58	234,42	1562,51	1,15	165,39	9,24	102,12
Linear	0,0004	0,0008 ²	<,0001	0,0272 ³	0,5628	0,0008 ⁴
Quadrática	0,2206	0,8576	0,4195	0,6459	0,8914	0,4151
Fonte*Nível	0,0194	0,3629	0,0259	0,7888	0,038	0,8918
SEM	31,52	127,74	0,18	19,39	1,12	31,52
C.V. (%)	15,48	9,20	19,11	12,56	13,11	15,11
Contrastes						
CN vs Todos	<,0001	<,0001	<,0001	0,0004	0,0086	<,0001
CN vs MHA0,46	0,0152	0,0121	0,0078	0,1129	0,6645	0,0063
CN vs MHA0,50	<,0001	0,0002	<,0001	0,0131	0,4605	<,0001
CN vs MHA0,54	<,0001	<,0001	<,0001	0,0006	0,2621	<,0001
CN vs MHA0,58	<,0001	<,0001	<,0001	0,0003	0,2711	<,0001
CN vs DLM 0,46	<,0001	<,0001	<,0001	0,0295	0,0019	0,0005
CN vs DLM 0,50	0,0002	<,0001	<,0001	0,0120	0,0017	<,0001
CN vs DLM 0,54	<,0001	<,0001	<,0001	0,0042	0,0060	<,0001
CN vs DLM 0,58	<,0001	<,0001	<,0001	0,0029	0,0009	<,0001
0,46% MHA vs DLM	0,0161	<,0001	0,0003	0,5375	0,0065	0,0769
0,50% MHA vs DLM	0,1529	0,0121	0,0788	0,1129	0,6644	0,0636
0,54% MHA vs DLM	<,0001	0,0002	<,0001	0,0131	0,4603	<,0001
0,58% MHA vs DLM	<,0001	<,0001	<,0001	0,0006	0,2621	<,0001

¹ Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,05% probabilidade.

²(ALV, $\hat{Y} = 1352x + 780,61$ $R^2 = 0,89$.) e ³($\hat{Y} = 87x + 118,21$; $R^2 = 0,62$) e ⁴(CC, $\hat{Y} = 185x + 1,425$; $R^2 = 0,82$).

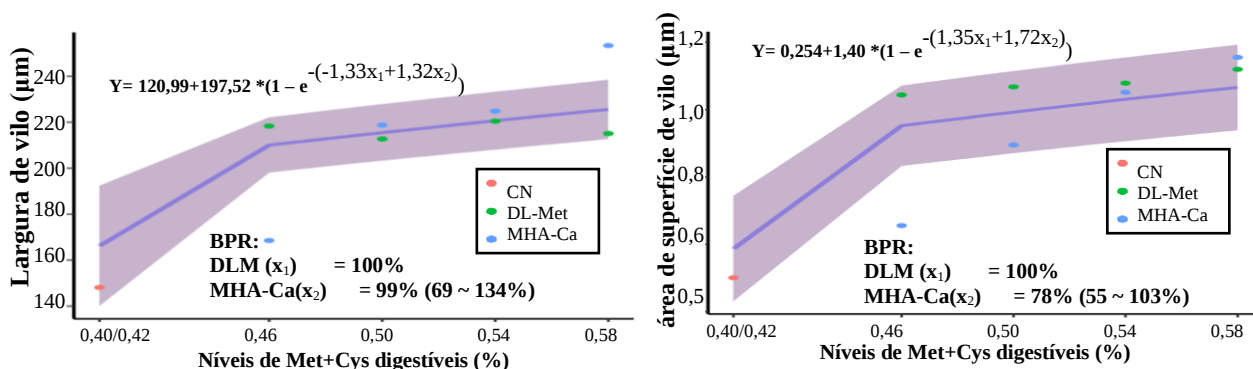
Foi observado efeito isolado entre as fontes para ALV e CC ($P < 0,05$). Em relação aos níveis de suplementação de Met+Cys a ALV e CC apresentaram comportamento linear ascendente (Tabela 15). Os contrastes ortogonais indicaram que a adição de metionina na dieta independentemente da fonte e nível utilizados, promoveu melhores resultados para LV, ALV, ASV, PC e CC. Porém, ao avaliarmos a V:C observou-se que a suplementação de DLM em todos os níveis apresentou maiores valores comparados ao controle, o que não ocorreu com a MHA-Ca, como também no nível de 0,58% para V:C. A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM largura de vilo LV, e área de superfície de superfície de vilo ASV foi de 99 e 78%, respectivamente, com o modelo exponencial, em base molar (Figura 17).

Tabela 16- Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre largura de vilo (LV), a área de superfície de vilo (ASV), relação vilo:cripta (V:C) de poedeiras leves de 62 semanas de idade

Variáveis	Fontes	Níveis de metionina (%)				Regressão	
		0,46	0,50	0,54	0,58	Linear	Quadrática
LV (μm)	MHA-Ca	170,70b	220,52	238,82	251,05	<,0001 ²	0,1203
	DLM	210,07a	214,97	217,05	217,80	0,6370	0,8624
	Valor de P ¹	0,0231	0,7433	0,2015	0,0534		
ASV (cm)	MHA-Ca	0,66b	0,92	1,08	1,17	<,0001 ³	0,2171
	DLM	1,01a	1,06	1,07	1,13	0,2406	0,9215
	Valor de P ¹	0,0006	0,1731	0,9643	0,7004		
V:C (μm)	MHA-Ca	8,16b	8,34b	8,56	8,55b	0,462	0,8224
	DLM	9,79a	9,81a	9,56	9,93a	0,9345	0,6765
	Valor de P ¹	0,0084	0,0169	0,1018	0,0249		

Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,05% probabilidade.

2(LV (MHA-Ca)): $\hat{Y} = 648,38x - 116,88$; $R^2 = 0,89$), 3(ASV (MHA-Ca)): $\hat{Y} = 4,225x - 1,2395$; $R^2 = 0,95$).



3.2 Morfometria do jejuno

A Tabela 17 apresenta os resultados da morfometria do aparelho digestivo (jejuno) em valores médios da largura de vilo (LV), altura de vilo (ALV), área de superfície de vilo (ASV), profundidade de cripta (PC), relação vilo: cripta (V:C) e número de células caliciformes (CC) de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis.

Houve efeito isolado entre as fontes para ALV, ASV e V:C ($P < 0,05$). Em relação aos níveis de suplementação de metionina o ALV, ASV e PC apresentaram comportamento linear ascendente. Por meio dos contrastes ortogonais observou-se que a inclusão de metionina de ambas as fontes e níveis não influenciou na LV. Contudo a adição desse aminoácido promoveu o aumento em ALV, ASV, PC e CC para todos os níveis de MHA-Ca e DLM, exceto para o

nível de 0,46 % de DLM. Para V:C, semelhante ao ocorrido no duodeno, a DLM apresentou maiores valores comparados ao controle, diferentemente do que ocorre com as aves que receberam MHA-Ca. A bioeficácia de MHA-Ca em comparação a DLM sobre a área de superfície de superfície de vilo ASV e relação vilo:cripta foi de 83 e 79%, respectivamente, com o modelo exponencial, em base molar (figura 18).

Tabela 17- Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo (LV), a altura de vilo (ALV), a área de superfície de vilo (ASV), a profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), e número de células caliciformes (CC) de galinhas poedeiras

Fontes	Variáveis					
	LV (μm)	ALV (μm)	ASV (cm)	PC (μm)	V:C (μm)	CC
MHA-Ca	157,11	908,61b	0,45b	109,82	8,30b	173,96
DLM	154,77	982,64a	0,47a	108,37	9,08a	176,78
Valor de P^1	0,9398	<,0001	0,026	0,7493	<,0001	0,8016
Níveis (%)						
0,46	157,06	822,86	0,40	101,56	8,14	173,85
0,50	154,69	909,70	0,44	107,27	5,50	176,68
0,54	156,04	1015,73	0,49	108,56	9,34	175,93
0,58	155,97	1034,23	0,50	118,65	8,77	175,00
Linear	0,9398	<,0001 ²	0,0004 ³	<,0001 ⁴	0,0168	0,9585
Quadrática	0,8391	0,1600	0,4772	0,5886	0,0606	0,8670
Fonte*Nível	0,9988	0,0882	0,5107	0,5886	0,3344	0,7035
SEM	21,19	89,80	0,08	8,62	0,95	41,69
CV (%)	14,52	10,15	17,92	8,44	11,37	25,41
Contrastes						
CN vs todos	0,1310	<,0001	<,0001	0,0003	0,047	<,0001
CN vs MHA0,46	0,1988	0,0182	0,0317	0,0525	0,7217	0,0048
CN vs MHA0,50	0,2337	0,0023	0,0111	0,0164	0,5173	0,0006
CN vs MHA0,54	0,2126	<,0001	0,0013	0,0041	0,1865	0,0048
CN vs MHA0,58	0,2124	<,0001	0,0002	<0,0001	0,2855	0,0091
CN vs DLM 0,46	0,2337	0,0676	0,0736	0,4946	0,4395	0,0025
CN vs DLM 0,50	0,3918	<,0001	0,0016	0,0138	0,0790	0,0084
CN vs DLM 0,54	0,2959	<,0001	<,0001	0,0132	0,0002	0,0014
CN vs DLM 0,58	0,3018	<,0001	<,0001	<,0001	0,0288	0,0009
0,46% MHA vs DLM	0,9237	0,5742	0,7069	0,2020	0,6757	0,8233
0,50% MHA vs DLM	0,1988	0,0182	0,0317	0,0525	0,7217	0,0048
0,54% MHA vs DLM	0,2337	0,0023	0,0111	0,0164	0,5173	0,0006
0,58% MHA vs DLM	0,2126	<,0001	0,0013	0,0041	0,1865	0,0048

¹Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,05% probabilidade.

²(ALV: $\hat{Y} = 1850,4x - 16,552$; $R^2 = 0,94$), ³(ASV: $\hat{Y} = 0,875x + 0,0025$; $R^2 = 0,94$), e ⁴(PC: $\hat{Y} = 133,95x + 39,441$; $R^2 = 0,90$)

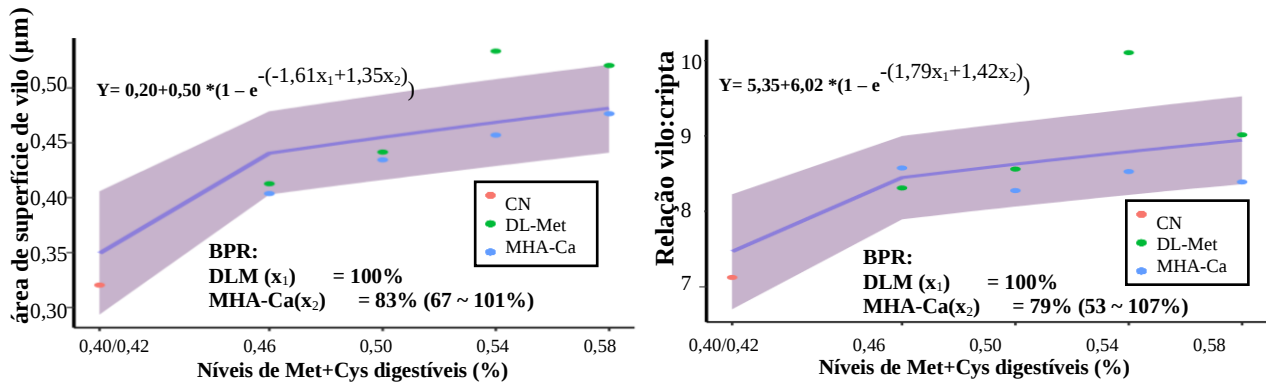


Figura 17- Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre área de superfície de vilo e relação vilo:cripta do jejuno de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.

3.3 Morfometria do íleo

A Tabela 18 apresenta os resultados da morfometria da mucosa intestinal (íleo) em valores médios da largura de vilo (LV), altura de vilo (ALV), área de superfície de vilo (ASV), profundidade de cripta (PC), relação vilo: cripta (V:C) e número de células caliciformes (CC) de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis.

Houve efeito isolado entre as fontes somente para LV ($P < 0,05$). Em relação aos níveis de suplementação de metionina a LV e ASV apresentaram comportamento linear ascendente. Por meio dos contrastes ortogonais não foi observado influência da inclusão de metionina de ambas as fontes e níveis na variável V:C. Contudo, a suplementação de metionina afetou as variáveis ALV, ASV, PC e CC para todos os níveis de MHA-Ca e DL-Met, exceto para o nível de 0,46 e 0,50% na PC com a fonte DLM. Ao avaliar os contrastes entre as fontes, as variáveis ALV, ASV e CC apresentaram diferenças aos níveis de 0,50, 0,54 e 0,58%. A LV e PC somente apresentou diferenças no nível de 0,58%. A bioeficácia de MHA-Ca em relação a DLM sobre altura de vilo ALV, foi de 79%, com o modelo exponencial, em base molar (Figura 19).

Tabela 18-Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a largura de vilo (LV), a altura de vilo (ALV), a área de superfície de vilo (ASV), a profundidade de cripta (PC), relação vilo:cripta (V:C), e número de células caliciformes (CC) de poedeira com 62 semanas de idade

Fontes	Variáveis					
	LV (μm)	ALV (μm)	ASV (cm)	PC (μm)	V:C (μm)	CC
MHA-Ca	152,57	774,05b	0,37	87,60	8,86	182,78
DLM	144,42	819,60a	0,37	92,28	9,01	191,40
Valor de P^1	0,1768	0,0216	0,9021	0,0543	0,6200	0,2456
Níveis (%)						
0,46	139,94	753,79	0,32	87,18	8,65	182,62
0,50	142,78	803,99	0,36	87,86	9,16	192,06
0,54	151,55	814,64	0,38	90,55	9,21	185,25
0,58	159,69	814,86	0,40	94,17	8,72	188,43
Linear	0,0134 ²	0,0285 ³	0,0012 ⁴	0,0301 ⁵	0,8390	0,7477
Quadrática	0,06579	0,2002	0,7017	0,5384	0,0881	0,6723
Fonte*Nível	0,7934	0,9519	0,7414	0,1625	0,2061	0,7317
SEM	22,29	72,14	0,06	19,79	1,08	27,50
CV (%)	16,04	9,67	18,52	10,57	12,93	15,71
Contrastes						
CN vs Todos	0,0113	<,0001	<,0001	0,0014	0,0378	<,0001
CN vs MHA0,46	0,0905	0,0036	0,0120	0,1031	0,4224	<,0001
CN vs MHA0,50	0,0786	<,0001	0,0019	0,0631	0,1162	<,0001
CN vs MHA0,54	0,0058	<,0001	0,0002	0,0109	0,1412	<,0001
CN vs MHA0,58	0,0057	<,0001	<,0001	0,0581	0,0497	<,0001
CN vs DLM 0,46	0,4626	<,0001	0,0215	0,0301	0,1869	<,0001
CN vs DLM 0,50	0,2529	<,0001	0,0006	0,0269	0,0224	<,0001
CN vs DLM 0,54	0,1186	<,0001	0,0003	0,0099	0,0119	<,0001
CN vs DLM 0,58	0,0042	<,0001	<,0001	<,0001	0,6352	<,0001
0,46% MHA vs DLM	0,3307	0,1604	0,8191	0,5738	0,5337	0,3583
0,50% MHA vs DLM	0,0905	0,0036	0,0120	0,1031	0,4224	<,0001
0,54% MHA vs DLM	0,0786	<,0001	0,0019	0,0631	0,1162	<,0001
0,58% MHA vs DLM	0,0058	<,0001	<,0001	0,0109	0,1412	<,0001

1Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,5% probabilidade.

2(LV: $\hat{Y} = 170,05x + 60,064$; $R^2 = 0,96$), (ALV: $\hat{Y} = 484,65x + 544,8$; $R^2 = 0,73$), 4(ASV: $\hat{Y} = 59,15x + 59,182$; $R^2 = 0,92$) e 5(PC: $\hat{Y} = 59,15x + 59,182$; $R^2 = 0,92$)

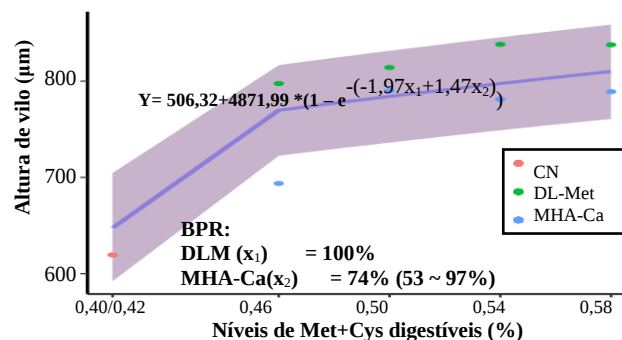


Figura 18- Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre a altura de vilo do íleo de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%

3.5 Glicogênio e esteatose hepática

Na figura 20 está apresentando os escores de glicogênio hepático. Houve efeito ($P < 0,05$) na interação entre as MHA e DLM e os níveis de Met+Cys para glicogênio hepático (GH) e esteatose hepática (EH). As poedeiras alimentadas com DLM apresentaram maior probabilidade no acúmulo de GE no score 2 e 3 à medida que se elevou os níveis de metionina. nível de 0,54% de suplementação houve redução no escore clínico para grau 1 nas poedeiras alimentadas com DLM. Aves suplementadas com a fonte MHA-Ca não apresentaram efeitos significativos diante o aumento dos níveis suplementados. Na figura 21 está apresentado as probabilidades de escore de esteatose hepática. As aves alimentadas com ambas as fontes com o aumento dos níveis de suplementação apresentaram maior probabilidade na presença de escores 1 e 0 EH. Houve a redução da probabilidade dos escores 3 e 2. Em aves alimentadas com MHA-Ca tiveram uma maior redução do escore 2 quando comparadas a DLM (Figura 21).

Houve efeito isolado entre a MHA-Ca e DLM para o GH ($P < 0,05$), porém não foi observado efeito para EH ($P > 0,05$). Ao avaliarmos aos níveis de suplementação de Met+Cys digestíveis ambas as fontes apresentaram efeito ($P < 0,05$). Por meio de contrastes ortogonais observou-se que todos os níveis de suplementação apresentaram diferença em relação ao tratamento controle nos escores de GH Para variável EH os escores 1 e 3 proporcionaram diferença significativa nos níveis de suplementação de metionina ($P < 0,05$). A presença de maior quantidade de vacúolos citoplasmáticos lipídicos dos hepatócitos caracterizando o escore 2 foi mais aparente nas poedeiras que receberam 0,46% de Met+Cys digestíveis (Figura22).

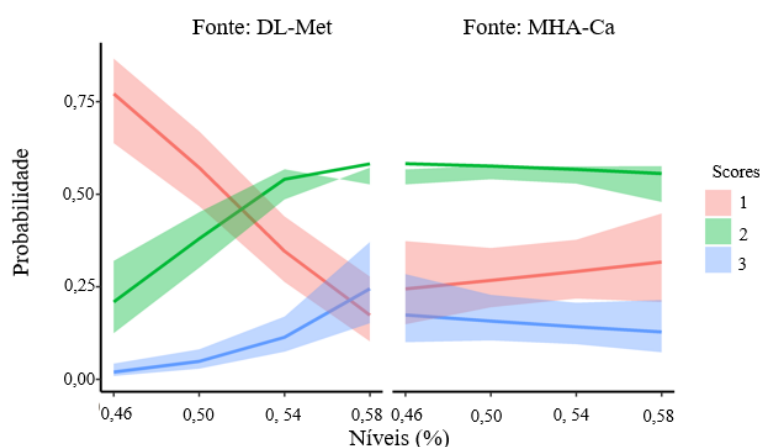


Figura 19- Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre as concentrações de glicogênio hepático (GH) em escores: 1 (pouca positividade), 2 (positividade moderada) e 3 (positividade intensa) de poedeiras leves com 62 semanas alimentadas

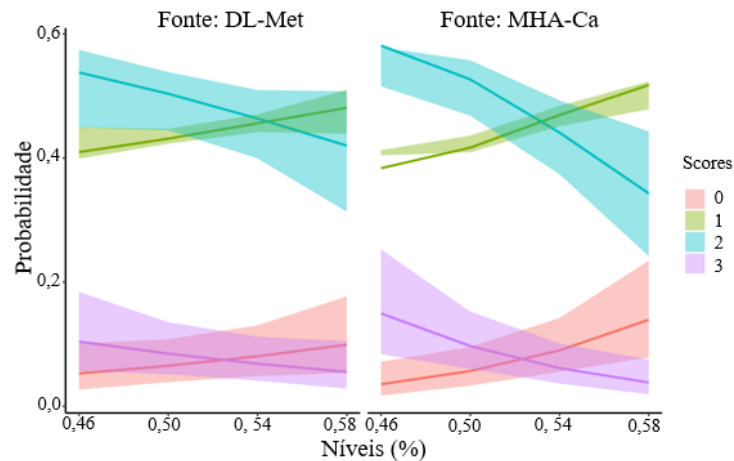


Figura 20- Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre as avaliações do escore de esteatose (EH) em escores: 0 (ausência de esteatose), 1 (pouca esteatose), 2 (esteatose moderada) e 3 (esteatose avançada)

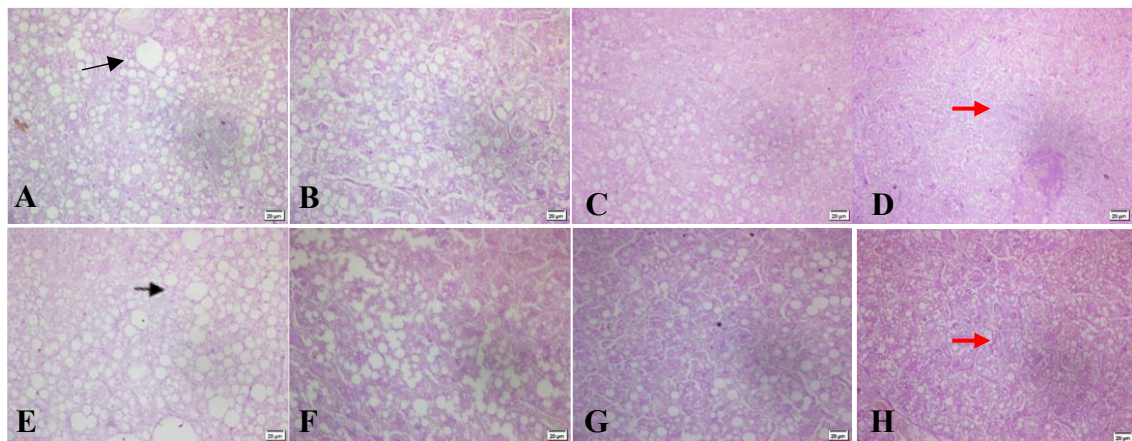


Figura 21- Fotomicrografias do fígado de poedeiras leves com 62 semanas alimentadas com diferentes níveis Met+Cys Digestíveis nas dietas. **A:**0,46 MHA-CA, **B:** 0,50 MHA-CA; **C:** 0,54 MHA-CA e **D:** 0,58% MHA-CA, **E:** 0,46 DLM; **F:**0,50 DLM; **G:** 0,54 DLM; **H:** 0,58 DLM. Coloração histoquímica de Periodic acid Schiff. Barra: 20 µm.

→ presença de vacúolos lipídicos → presença de maior intensidade de glicogênio hepático

3.6 Morfometria do útero e magno

A Tabela 19 apresenta os resultados da morfometria do aparelho reprodutivo com valores médios a altura de dobra uterínica (ADU), a largura de dobra uterínica (LDU), perímetro de dobra uterínica (PDU), a altura de prega (LPM), largura de prega LPM, perímetro de prega do magno (PPM), e espessura de epitélio do magno (EPM) de poedeiras leves alimentadas com MHA-Ca em relação a DLM e diferentes níveis de Met+Cys digestíveis. Houve efeito entre as

fontes de metionina e os níveis de suplementação para a variável de EPM ($P < 0,0001$). No nível de 0,58% de suplementação as aves que receberam DLM apresentaram maior EPM comparadas as que receberam MHA-Ca. Ao avaliarmos os níveis, as aves alimentadas com MHA-Ca apresentaram comportamento quadrático, com ponto máximo em 0,53%. As aves alimentadas com DLM apresentaram resposta linear ascendente (Tabela 20).

Tabela 19- Efeitos das fontes MHA-Ca e DLM e dos níveis de metionina sobre a altura de dobra uterínica (ADU), a largura de dobra uterínica (LDU), perímetro de dobra uterínica (PDU), a altura de prega (LPM), largura de prega (LPM), perímetro de prega do magno (PPM), e espessura de epitélio do magno (EPM) de galinhas poedeiras leves a 62 semanas de idade

Fontes	Variáveis						
	ADU (μm)	LDU (μm)	PDU (cm)	APM (μm)	LPM (μm)	PPM (cm)	EPM (μm)
MHA-Ca	2253,87b	493,21b	1,52	2838,87a	1082,88	2,64	28,00
DLM	2538,45a	552,58a	1,59	2685,40b	1055,17	2,55	30,86
Valor de P^1	0,021	0,0015	0,4811	0,0242	0,3313	0,3970	0,0004
Níveis (%)							
0,46	2053,87	461,78	1,34	2638,08	967,72	2,20	25,17
0,50	2329,06	538,71	1,71	2666,87	1027,31	2,42	27,58
0,54	2524,08	506,79	1,45	2754,23	1133,46	2,65	34,73
0,58	2677,62	584,3	1,73	2989,35	1147,61	3,12	30,26
Linear	<,0001 ²	0,0017 ³	0,0535	0,0003 ⁴	<,0001 ⁵	<,0001 ⁶	<,0001
Quadrática	0,4926	0,9899	0,6723	0,1251	0,425	0,2517	<,0001
Fonte*Nível	0,1214	0,1462	0,346	0,1241	0,8033	0,2454	<,0001
SEM	329,48	85,01	0,39	247,93	105,78	0,39	2,85
CV (%)	14,7	17,38	27,09	9,6	10,58	16,24	10,36
Contrastes							
CN VS Todos	0,0599	0,9256	0,0191	0,0081	0,0002	<,0001	<,0001
CN vs MHA0,46	0,5154	0,1597	0,4349	0,3197	0,3032	0,1785	0,0042
CN vs MHA0,50	0,5004	0,3068	0,0039	0,1488	0,0148	0,031	<,0001
CN vs MHA0,54	0,2969	0,7622	0,4208	0,0008	<,0001	<,0001	<,0001
CN vs MHA0,58	0,1755	0,6648	0,0641	<,0001	<,0001	<,0001	0,0016
CN vs DLM 0,46	0,6587	0,2686	0,5194	0,2592	0,1894	0,1238	<,0001
CN vs DLM 0,50	0,1613	0,0669	0,0410	0,2485	0,0548	0,0261	<,0001
CN vs DLM 0,54	0,0016	0,7945	0,0818	0,6484	0,0007	0,0277	<,0001
CN vs DLM 0,58	<,0001	0,0195	0,0010	0,0036	0,0002	<,0001	<,0001
0,46 MHA / DLM	0,8214	0,7282	0,8255	0,8439	0,713	0,7605	0,1293
0,50 MHA / DLM	0,4283	0,0016	0,1068	0,2338	0,8494	0,9393	0,7217
0,54 MHA / DLM	0,7222	0,0360	0,3683	0,0010	0,0463	0,0360	0,0592
0,58 MHA / DLM	0,0037	0,0131	0,0142	0,1877	0,4156	0,5509	<,0001

¹Letras minúsculas nas colunas diferem entre si pelo teste T a 0,5% probabilidade.

²(ADU, $\hat{Y} = 165,7x - 289,99$; $R^2 = 0,98$), ³(LDU, $\hat{Y} = 839,1x + 86,56$; $R^2 = 0,70$), ⁴(LPM, $\hat{Y} = 2852,9x + 1278,6$; $R^2 = 0,85$), ⁵(LPM, $\hat{Y} = 1614,6x + 229,46$ $R^2 = 0,93$), ⁶(PPM, $\hat{Y} = 7,475x - 1,2895$; $R^2 = 0,96$).

Houve efeito isolado entre as fontes para variáveis ADU, LDU e LPM ($P < 0,05$). Em relação aos níveis de suplementação de Met+Cys as variáveis ADU, LDU, LPM e EPM apresentaram comportamento linear ascendente. Os contrastes ortogonais indicaram no nível de 0,58% de metionina de ambas as fontes apresentam diferenças em todas as variáveis, exceto

nas variáveis ADU e LDU em poedeiras suplementadas com MHA-Ca em comparação a dieta controle. de 0,50 e 0,54% resultaram em diferenças nas variáveis LPM e PPM para poedeiras suplementadas com MHA-Ca e DL-Met. Em ambas as fontes todos os níveis apresentaram efeito para variável EPM. Em relação aos contrastes entre as fontes, aos níveis de 0,54 e 0,58% apresentaram diferenças para as variáveis LDU, PPM e EPM (Tabela 19). A bioeficácia de MHA-Ca em relação a DLM sobre a altura de dobra uterínica ADU, altura de prega do magno EPM e espessura de epitélio do magno EPM, foi de 70, 131 e 76%, com o modelo exponencial, em base molar (Figura 19).

Tabela 20- Efeito da interação entre a MHA-Ca em relação a DLM e dos níveis de Met+Cys sobre a espessura do epitélio do magno (EPM) de poedeiras leves de 62 semanas de idade

Varáveis	Fontes	Níveis de metionina (%)				Regressão	
		0,46	0,50	0,54	0,58	L	Q
EPM (μm)	MHA-Ca	24,04	27,32	36,13	24,54b	0,0371	<,0001 ²
	DLM	26,29	27,84	33,32	35,99a	<,0001 ³	0,6072
	Valor de P ¹	0,1564	0,7328	0,0707	<,0001		

1Letras minúsculas diferem entre as linhas, Teste T a 0,5% de probabilidade (P<0,05)

2(EPM (MHA-Ca): $\hat{Y} = 2323,4x^2 + 2442,1x - 609,01$; $R^2 = 0,62$. Máx = 0,53%), 3(EPM (DLM): $\hat{Y} = 86,45x - 14,094$; $R^2 = 0,95$).

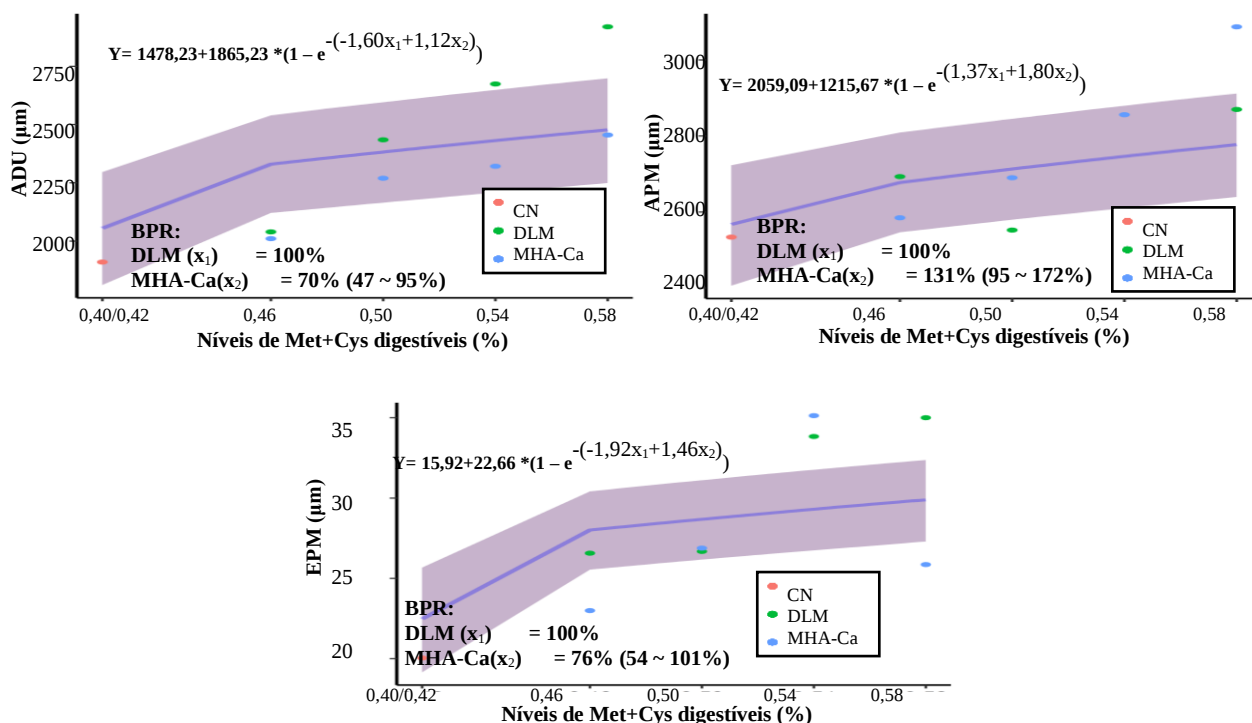


Figura 22- Bioeficácia relativa da MHA-Ca (84%) em relação a DLM (65%) sobre a altura de dobra uterínica ADU, altura de prega do magno EPM e espessura de epitélio do magno EPM de poedeiras suplementadas com Met+Cys. Os valores entre parênteses indicam o intervalo de confiança de 95%.

4. DISCUSSÃO

O crescimento e o desenvolvimento do trato gastrointestinal requerem uma variedade de funções do metabolismo dos aminoácidos, incluindo sínteses de proteínas, sinalização celular, função antioxidante e função imunológica (WANG et al., 2009). Segundo Ruan et al. (2018) um terço da ingestão dietética dos aminoácidos essenciais é utilizado no metabolismo de primeira passagem pelo intestino. Assim, o metabolismo e as funcionalidades dos aminoácidos podem representar uma necessidade funcional do trato gastrointestinal (TGI). Todavia, dentre os aminoácidos essenciais, é o trato digestivo consumir uma parte deste aminoácido (25%) por meios de transmetilação e transsulfuração, torna a utilização da metionina pelo TGI maior que outros aminoácidos essenciais (FANG et al, 2010). Portanto, desta forma, parece haver uma necessidade funcional específica para a metionina no intestino dos animais.

Sendo a homocisteína, a um importante doador de metila para a maioria das reações biológicas de metilação, e precursor da cisteína através da via cistationina, que apresenta influência direta na biossíntese da glutathione, cuja principal função é proteger as células contra o estresse oxidativo, através do status redox celular no intestino (RUAN et al., 2018); precursor indireto da taurina e enxofre inorgânico, que também são importantes antioxidantes celulares (BROSNAN; BROSNAN, 2006). Esses efeitos dos níveis de suplementação da metionina sobre a morfometria intestinal, e assim a melhora dos parâmetros, pode proporcionar as aves melhor desempenho produtivo e assim ganhos com a qualidade de ovos.

Sendo assim, o aumento e melhora dos parâmetros histomorfométricos possa ter ocorrido tanto pelo efeito antioxidante, através da síntese da glutathione, que por sua vez age na proteção das células através da remoção de metabólitos reativos pela sua conjugação com as formas reativas (MEISTER, 1974). Como também pelo estímulo da divisão celular, principalmente do epitélio intestinal através da síntese de poliaminas (esperminas e espermidina), e assim promovendo aumento na velocidade da renovação celular e proporcionando maior desenvolvimento dos vilos (BOUYEH, 2012).

Outra justificativa para o aumento da mucosa intestinal possa ser dada pela participação da metionina na produção de energia. Levando em consideração que em níveis mais elevados de metionina, possa ter ocorrido uma maior expressão na transsulfuração e assim conversão da homocisteína em succinil-CoA e então realizado a metabolização em ácido pirúvico (NELSON; COX, 2019). Diante desta informação, pode-se relacionar que a metionina tenha agido como estimulante energético, via ciclo de Krebs nas células de divisão, proporcionando maior

produção de energia para o consumo dos enterócitos e assim, possibilitando o aumento dos parâmetros histomorfométricos.

Todavia, em dietas contendo níveis mais baixos de metionina não foram suficientes para atender as demandas de crescimento da mucosa intestinal, devido as mudanças na concentração e do desequilíbrio dos aminoácidos nos tecidos corporais. Nessas circunstâncias há o comprometimento no desempenho, qualidade e desenvolvimento de órgãos (OLIVEIRA et al., 2007; STILBORN et al., 2010 e STRAKOVÁ et al., 2015). Estes níveis inferiores além de não serem capaz de atender a demanda de crescimento ou manutenção da mucosa, causa menor desenvolvimento o que pode ter perturbado o “status redox” da mucosa intestinal, através da supressão da proliferação celular e assim a indução a apoptose, devido a desordem e a diminuição na síntese dos metabólicos derivados da metionina que protegem as células (WU et al., 2004).

Foi possível observar uma biodisponibilidade diferente entre as fontes, onde em níveis baixos de metionina a DLM apresentou-se superior a MHA-Ca. Uma possível razão para os resultados variáveis na eficácia entre fontes seja as diferenças nas estruturas químicas desses compostos. E diferentes estruturas provavelmente requerem diferentes transportadores para a absorção intestinal. A MHA por apresentar um grupo hidroxila, ao invés de um amino a torna semelhante a uma molécula de monocarboxilato (MCT) do que um verdadeiro aminoácido. A mediação é feita por transportadores de MCT dependentes de prótons H^+ ou sódio Na^+ , enquanto, a DLM ocorre através do sistema B⁰, Y+L dependentes de Na^+ . Levando em consideração ao estudo de Opapeju et al. (2012) que observaram que nesta situação a DLM apresenta maior afinidade de substrato e velocidade máxima de absorção em comparação ao sistema depende de H^+ . E assim, em dietas com baixo nível de Met+Cys, essa taxa mais lenta de transporte da MHA pode prolongar a oportunidade para o metabolismo microbiano. Esse fator pode interferir na biodisponibilidade da metionina para o crescimento da mucosa de aves suplementadas com MHA-Ca.

Todavia, em níveis que atendam ou ultrapassem a exigência de Met+Cys digestível, a MHA-Ca proporciona desempenho semelhante e até permiti uma maior manutenção do crescimento da mucosa intestinal em relação a DLM. Han et al. (1990) afirmaram que além da microbiota intestinal, a temperatura ambiente pode influenciar diretamente a eficiência de utilização das fontes de metionina. Estes autores verificaram que a MHA-AL e a DLM são totalmente absorvidas no intestino de frangos de corte em condições de termoneutralidade. Porém, em condições de estresse térmico a absorção pela via dependente de sódio se torna alterada, resultando em menor captação da metionina.

Outra possível explicação seria pela limitação quanto aos transportadores de aminoácidos, haja vista, que a DLM compete pelo sítio de absorção com outros aminoácidos essenciais, como a lisina por exemplo. E assim, possa ter ocorrido uma disputa pelo transporte o que causa uma limitação na taxa da absorção devido ao aumento dos níveis de suplementação (LI et al., 2014). E como a MHA-Ca é absorvida por transportadores que não competem com outros aminoácidos, pode ter proporcionado uma maior captação pelo intestino e assim tornando o uso da metionina mais eficiente do que em aves alimentadas com DLM.

É possível que melhoria nos índices de largura de vilo, altura, área de superfície de vilo, relação vilo:cripta e número de células de caliciformes no duodeno e jejuno tenham proporcionada melhora na digestão e absorção intestinal. Respostas semelhantes foram encontradas por Fardost et al. (2019) que também observaram aumento na altura de vilo e na área de absorção no duodeno e jejuno de codornas de postura com o aumento nos níveis de suplementação de metionina. De fato, o aumento das vilosidades pode aumentar a área de absorção total das vilosidades luminais e subsequentemente resultar em ação enzimática digestiva satisfatória e maior transporte de nutrientes na superfície das vilosidades.

Os níveis de suplementação causaram no jejuno uma maior profundidade de cripta intestinal à medida que se elevou os níveis de Met+Cys na dieta. É sabido que as criptas intestinais estão relacionadas com a saúde intestinal do animal, ou seja, quanto maior a profundidade de cripta, maior a regeneração celular do epitélio do vilo, devido a possíveis lesões (mecânicas e/ou outros mecanismos patogênicos) ocorridos. E que é exatamente nessa região que as células são produzidas para garantir a manutenção e aumento da vilosidade (MORAES et al., 2021). Dessa forma, o aumento da cripta se torna benéfico quando há crescimento acompanhado das vilosidades intestinais e quando não há comprometimento no desempenho. Diante dessas informações, pode-se inferir que o maior nível de inclusão da metionina garantiu crescimento favorável para a profundidade de cripta.

Da mesma forma foi observado com a relação vilo:cripta do duodeno e jejuno. A referência sobre o status redox e a morfometria apoiam-se ao fato de que aves alimentadas com DLM apresentaram melhores resultados para este parâmetro, indicando que a suplementação de metionina foi responsável por aumentar a capacidade absorptiva do trato gastrointestinal da ave e, consequentemente causou maior disponibilidade de nutrientes. Estes resultados referentes as aves alimentadas com a DLM podem ser relacionadas as diferenças do tempo de absorção entre as fontes, como dito anteriormente, mas também possa ter ocorrido através da maior presença de L-metionina (L-Met) disponível mais rápido no TGI das aves. E através de uma variedade de espécies reativas de oxigênio reagindo prontamente com resíduos da L-Met

em proteínas para formar sulfóxido de metionina. Então, as redutases de sulfóxido de metionina catalisaram uma redução de sulfóxido de metionina de volta a L-Met, que consequentemente eliminou as espécies reativas provocando em um melhor desempenho desta fonte (LUO; LEVINE, 2009).

Os níveis de metionina proporcionaram aumento no número das células caliciformes no duodeno. Segundo Wu et al. (2018) as células caliciformes desempenham um papel importante no sistema digestivo dos animais; a quantidade de células caliciformes também indica o grau de saúde intestinal. Pois produz muco, mucina, que protege o epitélio intestinal de agentes infecciosos e mecânicos, e forma o glicocálice, que também desempenha um papel importante na digestão intestinal. A resposta do duodeno dentro deste parâmetro foi um indicativo que a metionina (0,58%) proporcionou aumentos no número de células caliciformes e as aves alimentadas com DLM apresentaram contagem superior em todos os seguimentos do intestino. Todavia, a redução na quantidade de células caliciformes observadas como resposta aos baixos níveis de metionina da dieta pode ter ocorrido em função da deficiência de aminoácidos que contém enxofre, ocasionando redução na contagem de células caliciformes, como também relatado por (BAUCHART-THEVRET et al., 2009)

Aves alimentadas com DLM tiveram maior probabilidade no acúmulo de glicogênio hepático em escore 2 (positividade moderada) e escore 3 (positividade intensa) com os níveis suplementados. Esse resultado tenha ocorrido, possivelmente pelo fato de que a metionina através do seu papel na biossíntese de L-carnitina (METZLER-ZEBELI e EKLUND, 2009), que induz a β -oxidação de ácidos graxos e pode causar tanto uma redução dos triglicerídeos na corrente sanguínea, como também pode estimular o fator de crescimento IGF-1, o qual melhora a captação de glicose (EBRAHIMI et al. 2017). Consequentemente, o aumento do estoque armazenado de glicogênio hepático pode proporcionar uma maior produção de energia e seu excedente pode ser transferido para a produção de ovos, como ocorreu nesta pesquisa.

A suplementação de níveis elevados de metionina proporcionou escore de grau 1 e 2 (ausência e pouca esteatose) no fígado das aves, como também, diminuição de esteatose moderada e avançada. A esteatose hepática se caracteriza pelo acúmulo de gordura no interior dos hepatócitos (células do fígado). Trata-se de uma desordem metabólica ocasionada por um desequilíbrio nutricional (energia/proteína). Collin et al. (2003) relacionaram que o teor de aminoácido na dieta e o acúmulo de gordura são inversamente proporcionais aos componentes da ração, enquanto o baixo teor de aminoácido aumenta o acúmulo de gordura hepática. Essa redução dos aminoácidos provoca o aumento da expressão do RNAm da enzima málica, que é responsável pela produção de NADPH necessário para a síntese de ácidos graxos, aumentando

assim o acúmulo de gordura (ROSEBROUGH et al., 2011). Outra explicação para o aumento de gordura em dietas com níveis baixos de metionina é o fornecimento de aminoácidos em quantidades insuficientes para sintetizar as lipoproteínas, dessa forma, o acúmulo de gordura ocorre no fígado (FLORES et al., 1970).

Outra de explicação com o aumento do consumo de Met+Cys digestíveis pode se dar pela produção indireta da taurina, aminoácido esse derivado da cisteína que é produto do metabolismo da metionina (NELSON; COX, 2019). A função mais bem estabelecida da taurina é a conjugação de ácidos biliares no fígado, resultando na formação de sais biliares solúveis em água que são cruciais para a formação de micelas com lipídios e, desse modo, efetuam um aumento geral na absorção de gordura no intestino delgado (TANNO et al., 1989; CATAFORA et al., 1991). Estudos realizados com diferentes espécies verificaram que o aumento da concentração de taurina no organismo pode diminuir os níveis de triglicerídeos e colesterol no fígado (YAN et al., 1993).

O aumento dos níveis de metionina possivelmente através da melhora dos parâmetros intestinais, pode proporcionar um maior desenvolvimento de dobras uterínicas. As dobras uterinas demonstram a capacidade que o útero tem em depositar carbonato de cálcio na formação da casca do ovo, assim como na agilidade deste processo. Nesse sentido, pode-se afirmar que à medida que se realiza uma maior suplementação de metionina em dietas de poedeiras ocorre um desenvolvimento do útero, proporcionando uma maior eficiência na deposição de sais de cálcio na casca do ovo. Quanto mais carbonato de cálcio melhor é a qualidade da casca do ovo, ou seja, elas se tornam mais espessas e consequentemente mais resistentes. Santana et al. (2014) citaram em seus trabalhos que a suplementação de metionina leva o aumento da quantidade de dobras do útero em poedeiras e em aves leves.

No magno ocorreu resultados semelhantes ao útero, porém em aves alimentadas com MHA-Ca o nível estimado de 0,53% de suplementação pode proporcionar a maior espessura de epitélio. Esta variável pode ser interpretada como uma maior eficiência no processo de formação do ovo, em particular, na deposição do albúmen, o que pode reduzir o tempo de produção e permanência do ovo no magno. Tal afirmativa se dar pelo fato desse epitélio produzir muco e ser ciliado, ou seja, ajudam na taxa de movimentação do albúmen produzido e por consequência na celeridade da produção do ovo. Assim, pode-se relacionar que quanto mais espesso o epitélio, maior a produção de muco, o que pode melhorar a taxa de passagem do albúmen em produção e consequentemente menor tempo de postura e maior produção de ovos, como visto nesta pesquisa (LIMA et al., 2013).

É no magno que ocorre a maior síntese de proteína para o albúmen. Assim, as mudanças na concentração de aminoácidos no sangue com o resultado da ingestão destes na alimentação ocasionam maiores efeitos na taxa de síntese de nutrientes no magno que no fígado (NOVAK et al., 2004). Dessa forma, a síntese de proteína no tecido do magno pode ser afetada por alterações na concentração de metionina no sangue.

Pode-se concluir que a suplementação de metionina independente da fonte utilizada é benéfica ao desenvolvimento da mucosa intestinal, parâmetros do útero e magno, maior estocagem de glicogênio hepático e menor incidência de esteatose hepática, com o nível de 0,58% de suplementação o que apresentou os melhores resultados. Diante da bioeficácia relativa pode-se concluir que as aves alimentadas com DLM apresentam maior biodisponibilidade em níveis menores de Met+Cys em relação a MHA-Ca. Contudo, foi No nível de 0,58% com a DLM que houve os melhores resultados avaliados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMINODAT® 5.0. **Animal nutritionist's information edge**. Essen: Evonik Nutrition and Care GmbH; 2016.

BAUCHART-THEVRET, C.; STOLL, B.; BURRIN, D. G. Intestinal metabolismo of sùlfur amino acids. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 175-187, 2009.

BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M.; E. The sulfur-containing amino acids: An overview. **Journal Nutrition**. St. Jonh's NL, v. 136, n. 6, p. :1636S –1640S, 2006.

BOUYEH, M. Effect of excess lysine and methionine on immune system and performance of broilers. **Annals of Biological Research**. Rasht, v. 3, n. 7, p. 3218-3224, 2012.

CANTAFORA, A.; BLOTTA, I.; ROSSI, S. S.; HOFMANN, A. F.; STURMAN, J. A. Dietary taurine content changes liver lipids in cats. **Journal Nutrition**. California, v. 121, n. 10, p. 1522-1528, 1991

COLLIN, A.; MALHEIROS, R. D.; MORAES, V. M. B.; VAN, A. S. P.; DARRAS, V. M.; TAOUIS, M.; DECUYPERE, E.; BUYSE, J. Effects of dietary macronutrient content on energy metabolism and uncoupling protein mRNA expression in broiler chickens. **British Journal of Nutrition**. Leuven, v. 90, n. 2, p. 261–269, 2003.

EBRAHIMI, S. F.; HEMMA, M.; MALEKANEH, M. Effects of the Date Palm Fruit (Phoenix Dactylifera L.) on Prolactin, IGF-1, and Stress Factors in Lactating Female Rats and Its Impact on Their Litters' Development. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**. Birjand, v. 10, n. 3, p. 251-258, 2017.

FANG, Z. F. HUANG, J. LUO et al., Effects of dl -2-hydroxy-4-methylthiobutyrate on the first-pass intestinal metabolism of dietary methionine and its extra-intestinal availability. **British Journal of Nutrition**. Wuhan, vol. 103, no. 5, pp. 643–651, 2010.

FARDOST, B; EBRAHIMI, M; MOGHADDAM, G; OLYAYEE, M; ADIBMORADI, M. ALIJANI, S. The effect of in ovo feeding of L-methionine on carcass traits, small intestine morphology, and blood metabolites of day-old broiler chicks. **Journal of Animal Science Research**. Tabriz, v. 29, n. 1, p. 751-88. 2019.

FLORES, H.; PARK, N.; MACCIONI, N.; MONKEBERG, F. Lipid transport in Kwashiorkor. **British Journal of Nutrition**. Santiago, v. 24, n. 4, p. 1005-1011, 1970.

ISHAK, K.; BAPTISTA, A.; BIANCHI, L.; CALLEA, F.; GROOTE, J. DE.; GUDAT, F.; DENK, H.; DESMET, V.; KORB, G.; MACSWEEN, R. N.; PHILLIPS, J. M.; BERNARD, G. P.; POULSEN, H.; SCHEUER, P. J.; SCHMID, M.; THALER, H. Histological grading and staging of chronic hepatites. **Journal of Hepatolog**. Basel, v. 22, n. 6, p. 696-699, 1995.

HAN, YANMING; CASTANON, F; PARSONS, C.M; PADEIROD.H Absorption and bioavailability of DLmethionine hydroxy analogue compared to DLmethionine. **Poultry Science**. Illinois, v. 69, n. 2, p. 281-287, 1990.

KALBANDE, V. H.; RAVIKANTH, K.; MAINI, S.; REKHE, D. S. Methionine supplementation options in poultry. **Internacional Journal of Poultry Science**. Maharashtra, v. 8, n. 6, p. 588-591, 2009.

LAUDADIO, V.; PASSANTINO, L.; PERILLO, A.; LOPRESTI, G.; PASSANTINO, A.; KHAN, R.; TUFARELLI, V. Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. **Poultry Science**. Valenzano, v. 91, n. 1, p. 265–270, 2012.

LIMA, M. R.; COSTA, F. G. F.; GUERRA, R. R.; SILVA, J. H. V. DA.; RABELLO, C. B. V.; MIGLINO, M. A.; LOBATO, G. B. V.; NETTO, S. B. S.; DANTAS, L. S. Threonine:lysine ratio for Japanese quail hen diets. **Journal of Applied Poultry Research**. Pará, v. 22, n. 2, p. 260-268, 2013.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; LEWIS, A. J.; AMMERMAN, C. B. Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. **Journal Animal Science**. Florida, v. 75, n. 10, p. 2672–2683, 1997.

LUO, S.; LEVINE, R. L. Methionine in proteins defends against oxidative stress. **The FASEB Journal**. Maryland, v. 23, n. 2, p. 464-472, 2009.

METZLER-ZEBELI, B.U; EKLUND, M; MOSENTHIN, R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. **World's Poultry Science Journal**. Baden-Württemberg, v. 65, n. 3, p. 419-442, 2009.

MORAES, L. R; DELICATO, M. E. A; CRUZ, A. S; SILVA, H. T. F. N; ALVES, C. V. B. V. SARAIVA, E. P; COSTA, F. P.; GUERRA, R. R. Methionine supplementing effects on intestine, liver and uterus morphology, and on positivity and expression of Calbindin-D28k and TRPV6 epithelial calcium carriers in laying quail in thermoneutral conditions and under thermal stress. **Plos one**. Paraíba, v. 6, n. 1, p. 1-22, 2021.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 1272 p. 2019.

NOVAK, C.; YAKOUT, H; The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in delkab delta laying hens. **Poultry Science**. Virginia, v. 83, v. 6, p. 977-984, 2004.

OPAPEJU, F. O.; HTOO, J. K.; DAPOZA, C.; NYACHOTI, C. M. Bioavailability of methionine hydroxy analog-calcium salt relative to dl-methionine to support nitrogen retention and growth in starter pigs. **Animal**. Manitoba, v. 6, n. 11, p. 1750–1756, 2012.

OLIVEIRA NETO, A. R. D.; OLIVEIRA, R. F. M. D.; DONZELE, J. L.; BARRETO, S. L. D. T.; VAZ, R. G. M. V.; GASPARINO, E. Levels of total methionine+ cystine for 22-to-42-day-old broilers kept under thermoneutral environment. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Minas Gerais, v. 36, n. 5, p. 1359-1364, 2007.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S; SILVA, F. E. S.; RIBEIRO, M. N. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Piauí, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.

ROSEBROUGH, R.W.; RUSSELL, B.A.; RICHARDS, M.P. Further studies on short-term adaptations in the expression of lipogenic genes in broilers. **Science Direct**. Beltsville, v. 59, n. 1, p. 1-6, 2011,

RUAN, D; FOUAD, A. M; FAN, Q; XIA, W; WANG, S; CHEN, W; ZHENG, C. Effects of dietary methionine on productivity, reproductive performance, antioxidant capacity, ovalbumin, and antioxidant-related gene expression in laying duck breeders. **British Journal of Nutrition**. Hong Kong, v. 199, n. 2, p. 121-130, 2018.

SANTANA, M. H. M.; COSTA, F. G. P; LUDKE, J. V; FIGUEIREDO JÚNIOR, J. P. interações nutricionais entre aminoácidos sulfurosos, colina e betaína para aves. **Archives Zootecnia**. Paraíba, v. 63, p. n. R, 69-83. 2014.

SAKAMOTO, K.; HIROSE, H.; ONIZUKA, A.; HAYASHI, M.; FUTAMURA, N.; KAWAMURA, Y.; EZAKI, T. Quantitative Study of Changes in Intestinal Morphology and Mucus Gel on Total Parenteral Nutrition in Rats. **Journal of Surgical Research**. Tokyo, v. 94, n. 2, p. 99–106, 2000.

STILBORN, H. L.; MORAN, E. T.; GOUS, R. M.; HARRISON, M. D. Influence of age on carcass (feather-free) amino acid content for two broiler strain-crosses and sexes. **The Journal of Applied Poultry Research**. Chicago, v. 19, n. 1, p. 13-23, 2010.

STRAKOVÁ, E; SUCHÝ, P.; NAVRÁTIL, P.; KAREL, T.; HERZIG, I. Comparação do conteúdo de proteína bruta e aminoácidos em todo o corpo de galos e galinhas dos híbridos Ross 308 e Cobb 500 no final da engorda. **Czech Journal of Animal Science**. Morávia do Sul, v. 60: n. 2, p. 67-74, 2015.

TANNO, N. S; OIKAWA, M; KOIZUMI, Y; FUJII, S; HORI, N; SUZUKI, E; SAKUMA, H; KOTAKE, K; NAMAI, A. N. D T. Effect of taurine administration on serum lipid and biliary lipid composition in man. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**. Tohoku, v. 159, n. 2, p. 91-99, 1989.

WANG W. W.; QIAO S. Y.; LI D. F. Amino acids and gut function. **Amino Acids**. Beijing, v. 37, n. 1, p. 105–110, 2009.

WU, G.; FANG, Y. Z; YANG, S.; LUPTON, J. R, TURNER, N. D. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. **Journal Nutrition**. Beijing, v. 134, n. 3, p. 489–492, 2004.

WU, Q. J.; LIU, N.; WU, X. H.; WANG, G. Y.; LIN, L. Glutamine alleviates heat stress-induced impairment of intestinal morphology, intestinal inflammatory response, and barrier integrity in broilers. **Poultry Science**. Henan, v. 97, n. 8, p. 2675–2683, 2018.

XIE, M.; HOU, S. S.; HUANG, W. Effect of excess methionine and methionine hydroxy analogue on growth performance and plasma homocysteine of growing Pekin ducks. **Poultry Science**. Beijing v. 86, n. 9, p. 1995–1999, 2007.

XING, J.; KANG, L.; HU, Y.; XU, Q.; ZHANG, N.; JIANG, Y Effect of Dietary Betaine Supplementation on mRNA Expression and Promoter CpG Methylation of Lipoprotein Lipase Gene in Laying Hens. **Journal Poultry Science**. Taian, v. 46, n. 9, p. 224-228, 2009.

YAN, C. C; BRAVO, E; CANTAFORA, A. Effect of taurine levels on liver lipid metabolism: an in vivo study in the rat. **Proceedings of the Society for Experimental Biology**. Roma, v. 202, n. 1, p. 88-96, 1993.

ZHAN, X. A; LI, J. X; XU, Z. R; ZHAO, R. Q. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broilers. **British Poultry Science**. Nanjing, v. 47, n. 5, p. 576-580, 2006.

CAPÍTULO 4

Considerações Finais e Implicações

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Diante dos resultados expostos, está esclarecido que a suplementação de uma dieta deficiente em metionina com o sal de cálcio hidroxí-análogo (MHA-Ca 84%) ou DL-metionina (DLM 65%) melhora significativamente o desempenho da ave e os parâmetros histomorfométricos. Os dados mostram que a bioeficácia da utilização da MHA-Ca como precursor de metionina pode variar de 67 a 99% em relação a DLM (base do produto).

A DLM apresentou-se superior nos parâmetros histomorfométricos em níveis de 0,46 e 0,50% de metionina. Contudo, as aves que receberam MHA-Ca, principalmente em níveis mais elevados, como 0,58% de Met+Cys digestíveis não apresentaram diferenças significativas. Levando-se em consideração aos resultados de desempenho, por terem proporcionando maiores pesos nos constituintes do ovo, pode causar uma melhor qualidade em relação a DL-Met.

Do ponto de vista econômico, pensando nos custos da produção e no retorno do capital investido. Mesmo que a MHA-Ca com 0,58% tenha apresentado o maior custo com o arraçamento, em contra ponto, proporcionaram menor custo por kg e caixa de ovo e melhor retorno financeiro favorecendo uma melhor lucratividade.

Se faz necessário mais estudos, a fim avaliar melhor a bioeficácia da fonte de MHA-Ca em relação a DL-Met, devido à escassez de trabalhos e com poedeiras leves usando o análogo sal de cálcio, ao invés do ácido livre, líquido (MHA-AL). Além de métodos estatísticos apropriados, para uma melhor interpretação dos resultados. Como também análises que ajudem a uma melhor elucidação e assim um direcionamento mais preciso do organismo quanto ao uso das fontes.